

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»

На правах рукописи

Витик Алексей Александрович

**Закономерности изменений уровней нейроспецифических белков и
биоэлектрической активности головного мозга в остром периоде
черепно-мозговой травмы и способы их коррекции**
(экспериментально-клиническое исследование)

14.03.03 – патологическая физиология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Л.Ф.Шолохов

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор

Г.З. Суфианова

Иркутск, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1. Современные представления о патофизиологических механизмах повреждения нервной ткани головного мозга.....	13
1.2. Биоэлектрическая активность головного мозга в норме и при повреждении.....	19
1.2.1. Спонтанная биоэлектрическая активность головного мозга.....	20
1.2.2. Физиологическая и патофизиологическая роль поляризационных процессов в ЦНС. Уровень постоянного потенциала головного мозга.....	21
1.2.3. Распространяющаяся депрессия.....	25
1.2.4. Изменения биоэлектрической активности головного мозга при повреждении.....	27
1.3. Биохимические маркеры повреждения ЦНС: NSE и S100 β	30
1.4. Нейропротекторная терапия ЧМТ: агонисты аденозиновых рецепторов ..	34
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	43
2.1. Общая характеристика клинических и экспериментальных исследований.....	43
2.1.1. Объекты исследования и используемые препараты.....	43
2.1.2. Моделирование локального компрессионного повреждения головного мозга.....	45
2.1.3. Методика имплантации эпидуральных электродов и исследования функционального состояния головного мозга.....	48
2.2. Общая характеристика клинических исследований.....	49
2.2.1. Описание клинических групп.....	49
2.2.2. Критерии отбора пациентов.....	51
2.2.3. Обоснование используемой дозы и протокол введения аденозинтрифосфата в остром периоде ЧМТ.....	52
2.2.4. Методы клинических исследований.....	55
2.3. Общие клинические результаты пролонгированного внутривенного введения АТФ в остром периоде ЧМТ.....	58
2.4. Методы статистической обработки результатов.....	65
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.....	66
3.1. Концентрация нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови у крыс в динамике при моделировании локального компрессионного	

повреждения головного мозга и на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата.....	66
3.2. Гистологические нарушения при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата	70
3.3. Изменения уровня постоянного потенциала головного мозга при моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга и на фоне профилактического введения АТФ	74
Глава 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА У ПАЦИЕНТОВ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ	80
4.1. Анализ основных клинических исходов у пациентов с ЧМТ и на фоне пролонгированного внутривенного введения АТФ	80
4.2. Динамика изменений концентраций нейроспецифических белков NSE и S100 β в сыворотке крови у пациентов в остром периоде ЧМТ и на фоне пролонгированного внутривенного введения аденозинтрифосфата.....	84
Глава 5. ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
ВЫВОДЫ	99
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	101
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	103

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования и степень его разработанности

Травматическое повреждение головного мозга является одной из основных причин смертности и инвалидизации лиц трудоспособного возраста в Российской Федерации и в мире [Скворцова В.И., Парфенов В.А. и соавт., 2012; Стаховская Л.В., Котов С.В., 2014; Гусев Е.И. и соавт., 2014; Крылов В.В., 2015]. Несмотря на урбанизацию и активное индустриальное развитие общества, частота и тяжесть черепно-мозговой травмы в течение последних 100 лет не только не уменьшается, но и возрастает, смертность при этом варьируется в среднем от 20 до 50%, а при тяжелых формах достигает 70%. Высокая социальная и медицинская значимость обуславливают актуальность поиска новых методов диагностики и лечения травматических повреждений ЦНС, что является важной проблемой патофизиологических исследований. [Вставская Т.Г., 2013; Пурас Ю.В. и соавт., 2013; Клочихина О.А., Данилов Г.В., 2015; Данилевич М.О., 2016; Marik P.E. et al., 2002; Broussalis E. et al, 2012; Ip H.L., Liebeskind D.S., 2014; Davis S., Donnan G.A., 2014; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015; Sánchez-Porrás R. et al., 2015; Moretti A. et al., 2015]. В настоящее время для оценки степени тяжести и прогноза исходов травматического повреждения ЦНС используют различные клинические шкалы, методы инструментальной диагностики и нейровизуализации, а также биохимические маркеры повреждения нервной ткани. Во многих клинических и экспериментальных исследованиях показана высокая значимость использования для прогноза исходов черепно-мозговой травмы оценки уровня сознания по шкале комы Глазго (ШКГ) и уровня нейроспецифических белков плазмы крови, в частности NSE и S100 β [Пурас Ю.В., Талыпов А.Э., 2013; Сосновский Е.А. и соавт., 2014; Yokobori S. et al., 2013; Strathmann F.G., 2014]. Однако, несмотря на достаточную значимость исследования концентрации нейроспецифических белков для оценки тяжести и прогноза ЧМТ, неизученным остается вопрос

патогенетической взаимосвязи изменения их концентрации в сыворотке крови с процессами формирования патологического очага повреждения нервной ткани и клиническими проявлениями повреждения ЦНС [Пурас Ю.В., Талыпов А.Э., 2013; Потапов А.А., и соавт., 2014; Крылов В.В. и соавт., 2016; Savola O. et al., 2004; Routsis C., et al., 2006; Strathmann F.G., 2014].

Не менее важным является разработка новых эффективных маркеров повреждения ЦНС для оценки потенциальных нейропротекторных свойств лекарственных препаратов, что может стать основой для новых методов патогенетически обоснованной терапии повреждения нервной ткани в острый период [Sánchez-Porrás R. et al., 2015; Reis C. et al., 2017; Lauritzen M., Strong A.J., 2017]. Традиционно, основные пути патогенетически направленной терапии различных нарушений при черепно-мозговой травме были сосредоточены на коррекции церебральной гемодинамики. В то же время, данный подход не позволяет решить всех проблем лечения вторичных ишемических повреждений и имеет определенные ограничения, связанные с воздействием только на сосудистый компонент патогенеза черепно-мозговой травмы [Суфианова Г.З. и соавт., 2014; Broussalis E. et al., 2012; Lalkovičová M., Danielisová V., 2016; Lauritzen M., Strong A.J., 2017; Babadjouni R.M. et al., 2017]. В настоящее время внимание исследователей и врачей привлекают лекарственные препараты с рецепторным механизмом действия, обладающие выраженной саногетической направленностью восстановления нервной ткани после ее ишемического повреждения. Перспективными рецепторными лекарственными препаратами являются агонисты аденозиновых рецепторов, непосредственно влияющих на основные патогенетические звенья ишемического каскада. [Laubach V.E. et al., 2011; Weisman G.A. et al., 2012; Zamani M. et al., 2013; Burnstock G., 2013, 2014; Pérez-Sen R. et al., 2015; Cuomo O. et al., 2015; Zhai W. et al., 2016; Babadjouni R.M. et al., 2017]. Однако, несмотря на достаточно высокий доказанный нейропротекторный потенциал ряда селективных A1 агонистов аденозиновых рецепторов в условиях эксперимента и успешный опыт использования аденозина и его аналогов в кардиологической и анестезиологической практике [Лебединский

К.М., 2000; Карелов А.Е. и соавт., 2006; Segerdahl M. et al., 2004; Лебедев О.В., 2007; Петренко О.А., 2012], потенциальные нейропротекторные свойства этих препаратов при травматических и ишемических повреждениях головного мозга изучены недостаточно [Суфианова и соавт., 2014; Pérez-Sen R. et al., 2015; Cuomo O. et al., 2015; Zhai W. et al., 2016; Babadjouni R.M. et al., 2017].

Цель работы

Все вышеизложенное позволило сформулировать основную цель работы, заключающуюся в установлении закономерностей изменений биоэлектрической активности мозга, уровней нейроспецифических белков и их взаимосвязей с процессами формирования повреждений головного мозга для патогенетического обоснования методов их коррекции.

Для реализации поставленной цели последовательно решались следующие **задачи:**

1. Установить изменения концентраций нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови крыс с локальным компрессионно-ишемическим повреждением головного мозга на фоне профилактического введения агонистов аденозиновых рецепторов.

2. Исследовать особенности электрофизиологических характеристик головного мозга у крыс с локальным компрессионно-ишемическим повреждением головного мозга при профилактическом применении агонистов аденозиновых рецепторов.

3. Выявить гистопатологические нарушения структуры головного мозга крыс с локальным компрессионно-ишемическим повреждением головного мозга при профилактическом введении агонистов аденозиновых рецепторов.

4. Определить концентрации нейроспецифических белков NSE и S100 β в сыворотке крови у пациентов в остром периоде черепно-мозговой травмы на фоне пролонгированного внутривенного введения аденозинтрифосфата.

5. Оценить и сравнить клиническую эффективность базисной терапии дополнительно с использованием агонистов аденозиновых рецепторов у пациентов в остром периоде черепно-мозговой травмы для патогенетического обоснования оптимизации лекарственной коррекции посттравматических ишемических нарушений функционирования головного мозга.

Научная новизна

В эксперименте впервые изучены нейродинамические процессы формирования патологического деполяризационного очага в области компрессии головного мозга, играющие важную роль в патогенезе повреждения головного мозга. Выявлена высокая взаимосвязь между сдвигами уровня постоянного потенциала, изменениями концентрации нейроспецифических белков S100b и NSE в плазме крови и морфологическими нарушениями в очаге повреждения головного мозга. В эксперименте и в клинике впервые показана возможность использования измерения концентрации нейроспецифических белков S100b и NSE в плазме крови для оценки потенциальных нейропротекторных свойств лекарственных препаратов и оптимизации алгоритма лечения ишемических и травматических повреждений головного мозга.

Приоритетными являются данные, основанные на результатах эксперимента и в дальнейшем, подтверждённые на клиническом материале что патогенетически обосновано включением агонистов аденозиновых рецепторов в состав комплексной нейропротекторной терапии повреждений нервной ткани травматического и компрессионного генеза. В эксперименте установлено, что введение АТФ существенно изменяет динамику формирования патологического деполяризационного очага в области компрессии головного мозга со значительно меньшими функциональными, биохимическими и гистопатологическими изменениями. Впервые показана клиническая возможность использования АТФ в алгоритме лечения и профилактики посттравматических ишемических нарушений в острый период тяжелой ЧМТ, что подтверждено неврологическими данными,

оценкой исходов и общей летальности, а также динамикой изменения концентрации нейроспецифических белков в плазме крови.

Теоретическая и практическая значимость работы

При моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга у крыс было установлено повышение концентрации нейроспецифических белков S100b и NSE в плазме крови.

У крыс при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга отмечено резкое увеличение уровня постоянного потенциала головного мозга.

Выявлена высокая положительная корреляция между изменениями концентрации нейроспецифических белков S100b и NSE в плазме крови и уровнем постоянного потенциала головного мозга с морфологическими нарушениями в очаге повреждения.

В условиях эксперимента установлено, что профилактическое введение АТФ сопровождается менее значительным увеличением концентрации нейроспецифических белков плазмы крови и значительно меньшими функциональными и гистопатологическими изменениями.

Выявлено, что локальная компрессия коры головного мозга у крыс сопровождается выраженными ишемическими изменениями в очаге повреждения, профилактическое внутрибрюшинное введение раствора АТФ (50 мг/кг) сопровождается значительным уменьшением выраженности морфологических нарушений при локальном компрессионно-ишемическом повреждении, что подтверждает цитопротекторные свойства данного препарата и его метаболитов.

У пациентов при повреждении головного мозга впервые показана эффективность церебропротекторной терапии с использованием аденозинтрифосфата.

Методология и методы исследования

Исследование проводилось в 2012-2017 гг. Основными объектами исследования являлись нейроспецифические белки плазмы крови (NSE, S100b), электрофизиологические параметры (УПП) и гистопатологические изменения у крыс при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга, а также нейроспецифические белки плазмы крови (NSE, S100b) и неврологический статус у пациентов в острый период ЧМТ при профилактическом введении АТФ. Дизайн исследования согласуется с принципами надлежащей клинической (ГОСТ Р 52379-2005) и лабораторной (ГОСТ Р-53434-2009) практики. Работа проводилась с соблюдением правил научных исследований и была одобрена Локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО Тюменского государственного медицинского университета Минздрава России. Теоретической и методологической основой исследования послужили фундаментальные и прикладные исследования отечественных и зарубежных ученых по данной проблеме, публикации в периодических изданиях, методические рекомендации.

Положения, выносимые на защиту

1. Повреждение головного мозга в эксперименте у крыс сопровождается повышением концентрации нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови и уровня постоянного потенциала головного мозга, выраженность которых прямо пропорционально коррелирует с локальными динамическими морфофункциональными изменениями в очаге повреждения
2. Введение аденозинтрифосфата при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга сопровождается менее значимым повышением концентраций нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови, уменьшением функциональных проявлений ишемической деполяризации и выраженностью гистопатологических нарушений в очаге повреждения.
3. Пролонгированное внутривенное введение аденозинтрифосфата в остром периоде черепно-мозговой травмы у пациентов сопровождается меньшей

степенью увеличения концентрации нейроспецифических белков в плазме крови, снижением летальности пациентов и улучшением клинических исходов повреждения головного мозга, что обосновывает и определяет возможность целенаправленного применения аденозинтрифосфата в составе комплексной нейропротекторной терапии повреждений нервной ткани травматического и компрессионного генеза.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным объемом экспериментального и клинического материала, однородностью выборки субъектов, применением современных методов исследования и адекватных методов биомедицинской статистики, теоретическим обоснованием полученных данных. Материалы и основные положения диссертации доложены на Сибирском международном нейрохирургическом форуме (Новосибирск, 2012), в рамках образовательного курса для молодых нейрохирургов Азиатского конгресса нейрохирургических обществ (ACNS) под руководством проф. Yoko Kato (Япония) (Тюмень, 2013), на конференции «Актуальные вопросы передовых технологий оперативного лечения в нейрохирургии» (Тюмень, 2015 на Всероссийском национальном конгрессе «Человек и Лекарство» (Москва, 2014-2016 гг.), конгрессе "Человек и лекарство. Урал 2016" (Тюмень, 1-3 ноября 2016 г.), XV научно-практической конференции «Поленовские чтения» (С-Петербург, 2016),), заседаниях ассоциации нейрохирургов Тюменской области (2014-2016 гг.).

Личное участие автора

Исследователем проведена самостоятельная работа с источниками отечественной и зарубежной литературы по теме диссертации, обобщение данных, оформление в виде обзора литературы, освоение методик и выполнение экспериментов на животных, в частности, моделирование повреждения головного мозга у крыс, регистрация и анализ электрофизиологических параметров у экспериментальных животных, проведение лабораторных анализов в соответствии с дизайном исследований; формирование базы данных, статистическая обработка полученного материала; написание и публикация статей, участие в научно-практических конференциях, конгрессах регионального уровня. Кроме того, проводился контроль над соблюдением дизайна исследования лечения пациентов, организацией забора, подготовкой к транспортировке и доставкой образцов крови в лабораторию. И осуществлялся постоянный контакт с анестезиологами и нейрохирургами.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования внедрены и используются в клинической практике ФГБУ «Федеральный центр нейрохирургии (г. Тюмень)» Минздрава России, ГЛПУ ТО «Областная клиническая больница №2» (г. Тюмень), в педагогическом процессе кафедры нейрохирургии с курсом нейрореанимации и нейрореабилитации ФПК и ППС ФГБОУ ВО Тюменского государственного медицинского университета Минздрава России, кафедры нейрохирургии ФГБОУ ВО Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова Минздрава России.

Публикации

По материалам выполненных исследований опубликована 21 работа, в том числе 4 – в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 132 страницах машинописного текста и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, собственные результаты и их обсуждение, общее заключение, выводы и список литературы. Работа иллюстрирована 25 рисунками и 4 таблицами. Список литературы содержит 295 источников, из них 70 отечественных и 225 зарубежных.

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о патофизиологических механизмах повреждения нервной ткани головного мозга

Высокая частота ишемических и травматических повреждений нервной ткани в клинической практике сочетается со сложностью патогенеза и недостаточной эффективностью существующих методов лечения [Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014; Anastasian Z.H., 2014; Davis S., Donnan G.A., 2014; Ip H.L., Liebeskind D.S., 2014; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015; Miras-Portugal M.T. et al., 2015; Reis C. et al., 2017], в связи с чем патогенетически обоснованное лечение различных видов повреждения нервной ткани является одним из актуальных вопросов современной медицины. В патогенезе повреждения нервной ткани можно выделить каскад ключевых реакций, приводящих к формированию вторичной гибели клеточных структур [Moretti A. et al., 2015]. При этом, независимо от первичных механизмов повреждения, ведущим триггерным моментом данного процесса является ишемия [Ip H.L., Liebeskind D.S., 2014], во время которой наиболее страдают наиболее «избирательно уязвимые» регионы мозга [Cuomo O. et al., 2015]. Степень и объем ишемических нарушений коррелирует со временем нарушения кровообращения [Campbell V.C. et al., 2014; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015]. При тромбозе единичных сосудов малого калибра отмечается формирование очага фокальной ишемии головного мозга, в котором выделяют три области в зависимости от степени кровоснабжения и обратимости нарушений [Campbell V.C. et al., 2014; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015].

Наиболее выраженное нарушение кровоснабжения отмечается в ядре инфаркта, где снижение кровотока достигает 85% от исходного. [Moretti A. et al., 2015]. Область, где нарушения мозгового кровообращения составляют от 15 до 40% от исходного уровня, называется зоной ишемической полутени или

пенумброй [Davis S., Donnan G.A., 2014]. В зоне пенумбры располагаются электрически невозбудимые клетки в состоянии ишемической деполяризации, что делает эту зону перспективной в плане терапии. [Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014; Lauritzen M., Strong A.J., 2017]. Как правило область ишемической полутени размерами значительно превышает ядро инфаркта, а время ее существования определяет так называемое «терапевтическое окно» [Tasker R.C., Duncan E.D., 2015; Reis C. et al., 2017]. По мнению ряда исследователей, восстановление кровоснабжения в этой области не является идеальной стратегией терапии повреждения нервной ткани, так как в результате этого возможно развитие вторичного феномена «реперфузионного повреждения» [Campbell B.C. et al., 2014; Lee J. et al., 2016; Lalkovičová M., Danielisová V., 2016, Che N. et al., 2017]. Область мозговой ткани, располагающаяся вокруг пенумбры, называется периинфарктной областью или экстрапенумброй и характеризуется степенью кровотока, близкой к нормальным показателям. В данной области наблюдаются преимущественно функциональные, и, как правило, всегда обратимые изменения нервных клеток [Duncan E.D., 2015].

Степень нарушения энергетического метаболизма зависит от исходного функционально-метаболического состояния нервных клеток до повреждения, продолжительности и выраженности травматического воздействия. По результатам ряда исследований, уже в первые минуты после нарушения кровообращения в ядре инфаркта отмечается значительное снижение уровня АТФ до 75% от исходного, данные изменения сопровождаются развитием ишемической или аноксической деполяризации [Moretti A. et al., 2015; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015]. В области пенумбры уровень АТФ снижается до уровня 50-70% от исходного, деполяризационные изменения нервной ткани в этой области носят транзиторный характер. В области ишемической полутени на ранних стадиях ишемии в результате нарушения ионного гомеостаза, вызванного нарушением активного энергозависимого трансмембранного переноса ионов против электрохимического градиента, отмечается повышение потребления глюкозы [Савинкова И.Г., и соавт, 2013; Davis S., Donnan G.A., 2014; Cuomo O. et

al., 2015; Alawieh A. et al., 2015], но через 4-5 часов оно падает до 30-50% от нормы. Отмечается дисбаланс между уровнем кровоснабжения ишемизированной области и интенсивностью обмена веществ: снижение перфузии мозговой ткани больше, чем понижение обмена глюкозы и макроэргических соединений [Yoo D.Y. et al., 2016; Campbell V.C. et al., 2014; Balança B. et al., 2017]. Вследствие нарушения ионного гомеостаза и перераспределения ионов в сторону повышения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и Na^+ и внеклеточной концентрации K^+ развивается деполяризация мембраны нервных клеток, сопровождающаяся электроотрицательными сдвигами уровня постоянного потенциала (УПП) нервной ткани [Sánchez-Porrás R. et al., 2015; Lauderdale K. et al., 2015; Hübel N. et al., 2016]. Повышение внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} в нейронах запускает каскад Ca^{2+} - зависимых процессов, что ведет к активации кальмодулинзависимых протеинкиназ, липаз и эндонуклеаз, а также фрагментации ДНК, что в свою очередь приводит к деструкции и модификации клеточных ферментов, генетического материала и липидов мембран, и в конечном итоге, к дезинтеграции и гибели клетки. При этом кальций, адсорбируясь на митохондриальных мембранах, приводит к блокированию дыхательной цепи электронов, лизису цитоскелета и деградации ферментов и мембраноассоциированных белков. Деструкция фосфолипидов клеточных мембран индуцирует образование субстратов из каскада арахидоновой кислоты, метаболизм которых значительно интенсифицирует процессы свободнорадикального окисления и перекисного окисления липидов [Alawieh A. et al., 2015]. Дополнительным источником продукции свободных радикалов при ишемии является ксантиноксидаза, субстратами для которой служат гипоксантин и ксантин, образующиеся при ишемии в результате АТФ-ного пула. При переокислении ксантиноксидазы с арахидоновой кислотой формируются супероксидные радикалы [Slemmer J.E. et al., 2008; Armogida M. et al., 2012; Olmez I., Ozyurt H., 2012; Ruszkiewicz J., Albrecht J., 2015; Farías J.G., 2016; Arteaga O. et al., 2017]. Еще одним источником свободных радикалов кислорода является внутримитохондриальная цепь транспорта электронов [Zhao M. et al., 2016;

Rodrigo R. et al., 2013]. Радикалы кислорода, инициируя цепные процессы перекисного окисления в мембранных липидах, вызывают повреждение ДНК, что в итоге приводит к развитию воспалительной реакции, нарушению микроциркуляции, повреждению ГЭБ и отёку головного мозга. Метаболиты арахидоновой кислоты - эйкозаноиды вызывают агрегацию форменных элементов крови и вазоконстрикцию [Каратеев А.Е., Алейникова Т.Л., 2016; Vidale S. et al., 2017]. Количество свободных радикалов в зоне ишемической полутени повышается с первых минут повреждения и остается таким в течение трех часов, а затем с началом реперфузии продолжает нарастать. Напротив, в зоне ядра инфаркта повышения уровня свободных радикалов в первые 3 часа не происходит, а после начала реперфузии отмечается лишь незначительное увеличение их концентрации [Campbell V.C. et al., 2014]. Гидроксильные радикалы (НО), супероксидные анионные радикалы (O_2^-), пероксильные радикалы (ROO) и пероксинитриты NO являются одними из ведущих повреждающих агентов в цепочке вторичного повреждения нервной ткани [Ruszkiewicz J., Albrecht J., 2015; Zhao M. et al., 2016; Farías J.G., 2016; Arteaga O. et al., 2017]. Наиболее разрушительное воздействие оказывает супероксидный анион и гидроксильные радикалы. При повреждении нервной ткани всегда происходит запуск цепи воспалительных реакций, которые служат дополнительным механизмом, усугубляющим процессы ишемии [Liu F., McCullough L.D., 2013; Shichita T. et al., 2014]. В течение 6 часов после начала реперфузии в очаг ишемии активно мигрируют лейкоциты [Jean W.C. et al., 1998; Alawieh A. et al., 2015], выделяющие большое количество цитотоксичных веществ и медиаторов воспаления. Макрофаги и микроглия в очаге ишемии усиливают повреждение, высвобождая свободные радикалы и воспалительные цитокины – фактор некроза опухоли, интерлейкин - 1, интерлейкин - 6, факторы адгезии тромбоцитов [O'Neill L.A., Kaltschmidt C., 1997; Watters O., O'Connor J.J., 2011; Liu F., McCullough L.D., 2013]. К токсическому действию цитокинов присоединяется фактор межклеточной адгезии-1 (ICAM-1), который связывается с лигандами лейкоцитов,

что в свою очередь приводит к адгезии лейкоцитов в просвете капилляров и нарушению кровотока [Greco R. et al., 2017; Li F. et al., 2017; Li Y., Liu S., 2017].

В 1978 г. Olney J.W., на основании экспериментальных данных, предложил теорию "эксайтотоксической смерти нейронов". В настоящее время эксайтотоксическое действие возбуждающих аминокислот (глутамат и аспарат) считается ключевым патофизиологическим механизмом повреждения нервной ткани [Савинкова И.Г., и соавт., 2013; Hossmann К.А., 2003; Zhou X. et al., 2013; Weilinger N.L. et al., 2013; Song M., Yu S.P., 2013; Shohami E., Biegon A., 2014]. В многочисленных экспериментах была выявлена прямая зависимость концентрации глутамата при ишемии с размерами очага инфаркта мозга [Wang P.F. et al., 2015; Yu G. et al., 2015]. Глутамат запускает каскад повреждения структур нервной системы через активацию специфических NMDA и AMPA рецепторов [Vizi E.S. et al., 2013; Lai T.W. et al., 2014; Brassai A. et al., 2015]. Однако, роль глутамата в ишемическом повреждении тканей мозга не столь однозначна. В условиях эксперимента было установлено, что для возникновения аноксической деполяризации с последующим развитием ишемического повреждения нервной ткани повышение уровня глутамата и активация его рецепторов не являются обязательными [Obrenovitch T.P., 2001; Baptiste L. et al., 2013]. Кроме того, большинство перспективных нейропротекторных препаратов: блокаторов и антагонистов глутаматных рецепторов оказались недостаточно эффективными в клинических исследованиях [Baptiste L. et al., 2013; Reis C. et al., 2017]. Очевидно, что в естественных условиях ишемическая деполяризация и активация глутаматных рецепторов могут протекать как взаимозависимые явления, являясь различными сторонами патофизиологических и патобиохимических проявлений ишемического процесса. По мнению многих исследователей, аноксическая и ишемическая деполяризация при повреждении является достаточно универсальным патофизиологическим механизмом повреждения нервной ткани [Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014 Kaminogo M. et al., 1999; Hinzman J.M. et al., 2015; Baptiste L. et al., 2013; Sánchez-Porrás R. et al., 2015\$ Lauritzen M., Strong A.J., 2017]. Доказана высокая степень

корреляции между изменениями уровня постоянного потенциала, повышением концентрации глутамата, изменением концентрации ионов K^+ и выраженностью морфологических изменений [Kubota M. et al., 1989; Mies G. et al., 1993; Busch E. et al., 1996; Shin H.K. et al., 2005; Toth P. et al., 2016; Balança V. et al., 2017]. Повреждающее действие деполяризации, которая является прямым следствием нарушения ионного гомеостаза, проявляется только при наличии метаболических нарушений, связанных с нарушением микроциркуляции. Распространяющаяся депрессия, сходная по своим электрофизиологическим и биохимическим проявлениям с ишемической деполяризацией, повреждение нервных клеток не вызывает [Back T. et al., 1996; Hossmann K.A., 2003].

Таким образом, кроме прямого ограничения механизмов глутаматной эксайтотоксичности, рациональным подходом в лечении и уменьшении зоны инфаркта является подавление деполяризационных процессов и снижение метаболической активности нервной ткани [Mies G. et al., 1993; Hossmann K.A., 2003; Sánchez-Porrás R. et al., 2015].

В истории фундаментальных экспериментальных и клинических изысканий в области исследования механизмов повреждения нервной ткани прошло несколько этапов изучения и понимания этого сложного комплексного процесса. До 60х годов прошлого века бытовало мнение о том, что при нарушении кровообращения ишемические изменения наступают достаточно быстро и являются необратимыми. В настоящее время очевидно, что ишемическое повреждение нервной ткани является комплексным последовательным патологическим процессом, который развивается после первичного повреждения мозговой ткани и в определенных временных интервалах является обратимым [Ip H.L., Liebeskind D.S., 2014; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015]. Методы современной визуализации морфологических структур, а также инструментальная оценка функционального состояния предполагаемого патологического очага определили границы данных временных интервалов, которые составляют т.н. терапевтическое окно [Davis S., Donnan G.A., 2014; Reis C. et al., 2017]. Новые научные данные позволили с надеждой взглянуть в будущее, настроили ученых вести дальнейшее

изучение механизмов ишемии нервной ткани, а также начать направленный поиск новых перспективных нейропротекторных лекарственных препаратов [Sánchez-Porrás R. et al., 2015].

1.2. Биоэлектрическая активность головного мозга в норме и при повреждении

В лабораторных и клинических исследованиях запись спонтанной электрической активности головного мозга является одним из самых распространенных методов оценки функционального состояния нервной ткани [Суфианова Г.З. и соавт., 2015; Зенков Л.П., 2013, 2017; Rogatsky G. et al., 2003; Wauquier A., 2004; Vanhatalo S. et al., 2005; Niedermeyer E., Lopes Da Silva F., 2005; Bauer G., Bauer R., 2005; Rodin E. et al., 2017]. В зависимости от частоты зарегистрированной биоэлектрической активности условно выделяют сверхмедленную до 0,01 Гц и медленную электрическую активность головного мозга [Лысенко Л.В., 2010; Кулинич О.В., Дашевский С.П., 2013; Фокин и соавт., 2013; Фокин и соавт., 2016; Rampp S., Stefan H., 2012; Rodin E. et al., 2017]. Многочисленные экспериментальные и клинические исследования указывают на высокую информативность регистрации сверхмедленных электрических колебаний потенциалов головного мозга в оценке сложных процессов функционирования головного мозга и обеспечивают новый подход к анализу функциональной организации нервной системы [Haider M. et al., 1981; Rockstroh V. et al., 1989; Chen S. et al., 2012; Xie Y. et al., 2014]. В то же время первоначальные технические ограничения и особенности развития электронной промышленности, связанные с техническим прогрессом в разработке усилителей постоянного тока, а также артефакты при регистрации данного вида электрической активности на первых усилителях привели к преимущественному использованию методики регистрации спонтанной биоэлектрической активности с помощью усилителей переменного тока в достаточно узком частотном диапазоне (0,5-50 Гц). Открытие полупроводников и развитие микроэлектроники отодвинули горизонты исследования роли сверхмедленной электрической

активности головного мозга и уровня постоянного потенциала в диагностике функционального состояния ЦНС в норме и при повреждении [Chen S. et al., 2012; Xie Y. et al., 2014; Kiviniemi V. et al., 2017].

1.2.1. Спонтанная биоэлектрическая активность головного мозга

Первые опыты по регистрации спонтанной биоэлектрической активности нервной системы проводились с использованием гальванометров и по своей сути представляли собой регистрацию сверхмедленной электрической активности. Изменения УПП в виде периодических сдвигов в головном мозге собаки одним из первых описал Ричард Катонн в 1875 г и позднее Кауфман в 1912 г. и Правдич-Неминский в 1913 г. [Суфианова Г.З., 2003; Зенков Л.Р., 2013]. Этими учеными было отмечено, что электрическая активность нервной системы изменяет свой характер при гипоксии, анестезии и других внешних воздействиях. В 1924 г. немецкий исследователь Ганс Бергер впервые записал и правильно интерпретировал колебания потенциалов с поверхности скальпа у человека. Согласно первоначальным предположениям, в основе ЭЭГ активности ведущее место отводилось потенциалам действия нейронов (т.н. теория «синхронизации»), что в ходе дальнейших исследований не подтвердилось [Niedermeyer E., Lopes Da Silva F., 2005]. Полученные экспериментальные данные также исключали возможность генерации спонтанной биоэлектрической активности в результате суммации медленной деполяризации и гиперполяризации после единичных спайков. В настоящее время установлено, что наиболее вероятным источником медленной спонтанной биоэлектрической активности головного мозга является суммация медленных постсинаптических потенциалов (ВПСП и ТПСП) [Зенков Л.Р., Ронкин М.А., 2013; Сотников П.И., 2014; Шаяхметова Э.Ш. и соавт., 2014; Зенков Л.Р., 2017; Caspers H., 1993;]. Регистрируемые изменения ЭЭГ и сверхмедленной электрической активности в определенной степени отражают нейродинамические процессы изменения функционального состояния и метаболизма нервной ткани [Ерофеев Н.П., 2014; Vanhatalo S. et al., 2003; Niedermeyer E., Lopes Da Silva F., 2005; Rampp S., Stefan H., 2012; Shin S.S. et al.,

2017]. Установлено, что более высокие частоты ЭЭГ коррелируют с более высокой степенью кровоснабжения головного мозга, уровнем потребления кислорода и глюкозы [Зенков Л.Р., 2017; Buchsbaum M.S. et al., 1984; Ingvar D.H. et al., 1979]. Несмотря на достаточно высокую степень изученности феномена ЭЭГ, диагностические возможности регистрации спонтанной биоэлектрической активности в традиционном частотном диапазоне (0,5-30 Гц) значительно ограничены. В клинике данный диагностический метод в основном играет роль в регистрации эпилептической активности и оценки общемозговых изменений. Это связано с тем, что одни и те же по своей природе воздействия могут вызывать различные, порой противоположные, трудно-интерпретируемые изменения ЭЭГ [Суфианов А.А. и соавт. 2006; Мурик С.Э., 2013; Sonn J., Mayevsky A., 2006; Rogatsky G. et al., 2003]. Одной из причин низкой диагностической значимости метода ЭЭГ является аппаратное ограничение нижней частотной границы ЭЭГ, что приводит к искажению физиологически значимых особенностей активности головного мозга. Использование усилителей постоянного тока (т.н. методика full-band ЭЭГ или омегаэлектроэнцефалография) для регистрации сверхмедленных компонентов ЭЭГ (омегапотенциал, УПП) позволяет значительно увеличить диагностическую значимость данной электрофизиологической методики [Шаяхметова Э.Ш. и соавт., 2014; Caspers H., 1993; Kiviniemi V. et al., 2017; Rodin E. et al., 2017].

1.2.2. Физиологическая и патофизиологическая роль поляризационных процессов в ЦНС. Уровень постоянного потенциала головного мозга

Изменения поляризованности структур ЦНС играют важную биологическую роль в механизмах функционирования головного и спинного мозга как в норме, так и при патологии. Установлена важная роль уровня поляризации нервных клеток в межклеточных электротонических взаимодействиях, морфогенезе, регенерации, а также в синхронизации работы нервных клеток позвоночных [Галимов Н. М. и соавт., 2009; Илюхина В.А., 2010;

Yanamoto H. et al., 2005; Tamura Y. et al., 2012;]. Единственным достаточно доступным и малоинвазивным методом прямой оценки уровня поляризации структур нервной системы является методика регистрации электрической активности в виде уровня постоянного потенциала (УПП) [Шапкин А.Г., 2005; Заболотских И. Б. и соавт., 2008; Миндияров А.Ю., 2009; Кулинич О.В., Дашевский С.П., 2013; Vanhatalo S. et al., 2005 Bapteste L. et al., 2013; Bastany Z.J. et al., 2016; Kazemi H. et al., 2014; Lauritzen M., Strong A.J., 2017].

Уровень постоянного потенциала можно определить, как устойчивую разность потенциалов, существующую между мозгом и электрически индифферентными областями тела или между разными зонами головного мозга [Фокин и соавт., 2013; Шаяхметова Э.Ш. и соавт., 2014]. Предполагается, что УПП является суммарным показателем поляризованности структур ЦНС, главным образом, за счет суммации мембранных потенциалов нейронов и клеток глии [Kaminogo M. et al., 1999; Niedermeyer E., Lopes Da Silva F., 2005; Unekawa M. et al., 2013], отражающий, в конечном итоге, один из основных показателей функционального состояния (ФС) мозга - возбудимость [Ерофеев Н.П., 2014]. Исходя из анализа доступной литературы, гипотезы о происхождении УПП можно условно разделить на 2 основные группы: метаболическую концепцию и мембранную гипотезу.

Согласно мембранной гипотезе, положительные сдвиги УПП вероятнее всего связаны с процессами гиперполяризации или реполяризации, а электронегативные отклонения – с процессами деполяризации мембран нервных клеток [Мурик С.Э., 2012, 2013; Депутат И.С., 2015; Rampp S., Stefan H., 2012;]. Эта гипотеза основывается на результатах одновременного измерения мембранных потенциалов нейронов и УПП коры головного мозга. Кроме того, существуют данные о взаимосвязи мембранных потенциалов глиальных клеток и уровня постоянного потенциала [Лысенко Л.В., 2010; Somjen G.G., 2001; Lian X.Y., Stringer J.L., 2004; Torrente D. et al., 2014]. Возможная роль глиальных клеток в генезе сверхмедленной электрической активности впервые была установлена в работах Galambos R. (1961) и Ройтбак А.И. (1983). Дополнительное

подтверждение данной гипотезы было получено Nicholls J.G. (1966) и Kuffler S.W. (1967). Позднее была установлена высокая взаимосвязь между изменениями УПП и деполяризацией глиальных клеток в ЦНС многих высших животных [Somjen G.G., 2001; Castellucci V.F., Goldring S., 1970; Ghaemi A. et al., 2017]. Параллельная регистрация УПП, мембранного потенциала глии и нейронов в эпилептическом фокусе и при распространяющейся депрессии позволили предположить равнозначную роль как нейронов, так и глиальных клеток в генезе сверхмедленной электрической активности [Галимов Н. М. и соавт., 2009; Мурик С.Э., 2013; Torrente D. et al., 2014; Pinto L.F. et al., 2017]. Деполяризация глиальных клеток может запускать механизмы глиальной пролиферации, что имеет значение при развитии явления глиоза в патогенезе ЧМТ и других травматических воздействиях [Moraga A., et al., 2015].

Согласно гипотезам о внеклеточном происхождении изменений УПП, предполагается, что в генерации уровня постоянного потенциала нервной ткани определенную роль может играть рН-чувствительный трансэндотелиальный градиент потенциала между цереброспинальной жидкостью и кровью [Фокин В.Ф. и соавт., 2016; Nita D.A. et al., 2004; Kiviniemi V. et al., 2017; Rodin E. et al., 2017]. Фокин В.Ф. и соавт. (2013) связывают изменения уровня постоянного потенциала с изменением энергетического метаболизма в результате накопления кислых продуктов обмена на границе гематоэнцефалического барьера. Сдвиги УПП коррелируют с изменениями локального мозгового кровотока [Sonn J., Mayevsky A., 2006; Wallois F. et al., 2009; Kiviniemi V. et al., 2017; Rodin E. et al., 2017]. Установлено, что увеличение локального мозгового кровотока сопровождается негативными сдвигами постоянного потенциала, а снижение - позитивными изменениями [Wallois F. et al., 2009; Lauritzen M. et al., 2011; Lauritzen M., Strong A.J., 2017]. Взаимосвязь сверхмедленной и медленной электрической активности носит сложный и неоднозначный характер [Боицова Ю. А., 2007; Виничук С.М., Трепет А.С., 2014; Джос Ю.С. и соавт., 2014; Xie Y. et al., 2014; Kiviniemi V. et al., 2017; Rodin E. et al., 2017]. Одновременная регистрация данных видов биоэлектрической активности дает

взаимодополняющую информацию о состоянии и активности головного мозга, что объясняется тем, что УПП отражает суммарный мембранный потенциал нейронов и глиии, а также косвенно связан с функционированием ГЭБ, а ЭЭГ отражает суммацию ВПСП и ТПСР [Зенков Л.Р., Ронкин М.А., 2013; Зенков Л.Р., 2017]. При этом изменения УПП и сверхмедленной электрической активности в оценке степени и распространенности повреждения нервной ткани более информативны, чем суммарная оценка изменений ЭЭГ [Torrente D. et al., 2014; Pinto L.F. et al., 2017; Ghaemi A. et al., 2017]. Выраженные электроотрицательные изменения постоянного потенциала (около 9 мВ) регистрируются при эфирном наркозе и сопровождаются доминированием медленноволновой активности на ЭЭГ [Шапкин Ю.Г., 2007]. Изменения такой же амплитуды в противоположном направлении при барбитуратовом наркозе приводят в общем к близким изменениям электроэнцефалограммы – преобладанию медленноволновой активности [Мурик С.Э. 2013]. Менее выраженные отрицательные сдвиги постоянного потенциала (до 4 мВ) сопровождаются развитием эпилептиформной активности, при этом, в ряде случаев изменения постоянного потенциала предшествуют изменениям медленной электрической активности головного мозга [Wallois F. et al., 2009]. Более сложно оценить взаимосвязь уровня постоянного потенциала и ЭЭГ при меньших по амплитуде сдвигах УПП, что связано с неоднозначностью результатов о сдвигах УПП при бодрствовании, сне, действии афферентной стимуляции [Заболотских И. Б. и соавт., 2008; Аракелян А. С., Долецкий А. Н., 2013; Александров Ю.А., 2017]. При ишемии и реперфузии показан сложный характер изменений УПП и ЭЭГ [Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014]. Разнонаправленные сдвиги УПП могут сопровождаться как увеличением, так и уменьшением амплитуды ЭЭГ, отражая при этом развитие разного функционального состояния головного мозга. Электроотрицательные сдвиги УПП и повышение амплитуды ЭЭГ, как правило, отражают развитие деполяризации мембраны нейронов, повышение возбудимости и увеличение метаболической потребности нервной ткани. Противоположные изменения отражают электроотрицательные сдвиги УПП и угнетение амплитуды ЭЭГ, имеющие место

при большей деполяризации нейронов и развитии так называемого явления деполяризационного торможения (по парабиотическому или катодическому типу), связанного с выраженными нарушениями ионного гомеостаза. Восстановление биоэлектрической активности отражает улучшение функционального и метаболического состояния нервной ткани [Виноградова Л.В., 2014; Back T. et al., 1996; Vock A. et al., 1993; Ohta K. et al., 2001; Balança V. et al., 2017]. При позитивных сдвигах УПП почти всегда отмечается снижение функциональной активности нервной ткани [Заболотских И. Б. и соавт., 2008; Миндияров А.Ю., 2009]. Таким образом, взаимосвязь между УПП и ЭЭГ, наиболее вероятно, выражается нелинейной колоколообразной функцией, на основании результатов одновременной регистрации уровня постоянного потенциала и можно судить о развитии в данный момент времени одного из трех возможных функциональных состояний нервной ткани: деполяризационного торможения, экзальтации и гиперполяризационного торможения [Илюхина В. А., 2010; Мурик С.Э., 2012, 2013; Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014].

1.2.3. Распространяющаяся депрессия

Распространяющаяся депрессия (РД) - уникальный физиологический феномен, впервые описанный в 1944 г Leão [Leao A.A.P., 1944], представляющий собой медленно распространяющуюся волну деполяризации, в ходе которой регистрируется первоначальное увеличение и последующее угнетение нейрональной активности [Koroleva V.I., Bures J., 1996; Lauritzen M., Strong A.J., 2017; Baptiste L. et al., 2013; Hinzman J.M. et al., 2015; Toth P. et al., 2016; Pinto L.F. et al., 2017], сопровождающийся гиперемией и выраженным изменением ионного гомеостаза нервной ткани [Gorji A., 2001; Strong A.J., Dardis R., 2005]. Степень деполяризации при РД, как правило, варьируется от 10 до 40 мВ [Lauritzen M., Strong A.J., 2017], скорость распространения корковой РД составляет от 3 до 9 мм/мин [Kaufmann D. et al., 2017; Somjen G.G., 2001]. Во время волны РД было зарегистрировано повышение уровня энергетического метаболизма нервных клеток [Unekawa M. et al., 2013; Balança V. et al., 2017]. При распространении

волны РД отмечается повышение свободной концентрации арахидоновой кислоты, уменьшение концентрации фосфокреатина (на 38%) и концентрация глюкозы (на 37%), повышение уровня АДФ (на 38%) и концентрация лактата (на 105%). При прохождении волны РД в коре головного мозга выявляется развитие гиперемии с последующей длительной гипоперфузией, сопровождаемое значительными негативными сдвигами УПП и депрессией ЭЭГ [Unekawa M. et al., 2013; Green A.L. et al., 2014]. При РД отмечается увеличение проницаемости ГЭБ [Vidale S. et al., 2017; Cai W. et al., 2017]. В настоящее время установлена ведущая патогенетическая роль РД и РД-подобной деполяризации в патогенезе многих заболеваний нервной системы, таких как ишемические и травматические повреждения нервной ткани головного и спинного мозга, эпилепсия, повышение внутричерепного давления, мигрень [Гиниатуллин Р.А., 2011; Виноградова Л.В., 2014; Gorji A., 2001; Gorji A. et al., 2004; Baptiste L. et al., 2013; Lauritzen M., Strong A.J., 2017; Pinto L.F. et al., 2017]. Предполагается роль деполяризации при РД, как основного механизма, лежащего в основе индукции генов при повреждении нервной ткани, играющей роль в отсроченной гибели нейронов и развитии механизмов толерантности, функциональной компенсации при гипоксии и ишемии [Yrjanheikki J. et al., 2000; Koistinaho J., Chan P.H., 2000; Lauritzen M. et al., 2011; Takizawa T. et al., 2016] Установлена связь РД подобной деполяризации в механизмах экспрессии нестина, белка, содержащегося в реактивных и менее дифференцированных клетках ЦНС [Holmin S. et al., 2001; Lauritzen M. et al., 2011], механизмах глиальной пролиферации при повреждении мозга [Moraga A., et al., 2015; Ghaemi A. et al., 2017]. Вероятна роль деполяризации в индукции нейрогенеза в мозге взрослых животных [Yanamoto H. et al., 2005; Tamura Y. et al., 2012]. Вследствие сохранения баланса между поступлением субстратов метаболизма (кислород, глюкоза) и их потреблением, в условиях эксперимента РД, как правило, не вызывает повреждения нейронов и глиальных клеток, повреждающее действие деполяризации вероятно связано с резким увеличением метаболической нагрузки при ишемии, что приводит к несоответствию между потребностью в энергетических субстратах и их поступлением в ткань [Hossmann

К.А., 2003; Lauritzen M. et al., 2011; Torrente D. et al., 2014; Ghaemi A. et al., 2017].

Таким образом, распространяющаяся депрессия (РД) представляет собой уникальное явление, лежащее в основе многих патофизиологических состояний ЦНС, сопровождающихся развитием деполяризационных процессов [Фокин и соавт., 2013; Виноградова Л.В., 2014; Koroleva V.I., Bures J., 1996; Teive H.A. et al., 2005; Unekawa M. et al., 2013], что открывает новые перспективы для продолжения исследований РД и РД-подобной деполяризации в генезе механизмов повреждения нервной ткани и разработки новых нейропротекторных стратегий [Somjen G.G., 2001; Baptiste L. et al., 2013; Kazemi H. et al., 2014; Sánchez-Porrás R. et al., 2015; Bastany Z.J. et al., 2016; Balança B. et al., 2017; Lauritzen M., Strong A.J., 2017].

1.2.4. Изменения биоэлектрической активности головного мозга при повреждении

Нарушение гомеостаза и ионного метаболизма головного мозга при травме приводят к соответствующим закономерным электрофизиологическим нарушениям [Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014; Hossmann K.A., 1994,1996]. Ишемические изменения в ЦНС характеризуются развитием в ядре инфаркта стойкой деполяризации, сопровождаемой выраженными негативными сдвигами УПП, в области ишемической полутени деполяризационные изменения носят транзиторный характер [Vock A. et al., 1993; Back T. et al., 1995; Ohta K. et al., 2001; Strong A.J., Dardis R., 2005]. Установлено, что процессы ишемической деполяризации связаны с нарушением трансмембранного энергозависимого переноса ионов против электрохимического градиента и стимуляцией глутаматных рецепторов. При ишемическом повреждении происходит перераспределение ионов в сторону повышения внеклеточной концентрации K^+ и внутриклеточной концентрации Ca^{2+} и Na^+ [Weilinger N.L. et al., 2013; Song M., Yu S.P., 2013]. Также на ранних стадиях процесса реперфузии фиксируется функциональное ухудшение синаптической передачи и потенциала действия

[Литвицкий П.Ф., 2013; Hübel N. et al., 2016]. Выявлена высокая зависимость между изменениями УПП и степенью повреждения нервной ткани [Суфианова Г.З., Шапкин А.Г., 2014; Kubota M. et al., 1989; Mies G. et al., 1993; Kaminogo M. et al., 1999; Hinzman J.M. et al., 2015; Lauritzen M., Strong A.J., 2017]. Более продолжительная ишемическая деполяризация, как правило, сопровождается морфологическим большим объемом инфаркта [Dijkhuizen R.M. et al., 1999; Kazemi H. et al., 2014].

Явления гипоксии так же характеризуются деполяризацией нервной ткани и сопровождаются отрицательными сдвигами УПП. Исследователями было установлено, что повторные гипоксические состояния ухудшают восстановление УПП и вызывают уменьшение латентного периода и увеличение амплитуды деполяризации [Kral T., 1993, Kohling R. et al., 1996], что было связано со снижением запасов АТФ и прогрессирующим нарушением метаболизма и ионного гомеостаза нервной ткани. Состояние гипертермии и гипогликемии потенцируют деполяризационные сдвиги в ЦНС при ишемии и гипоксии [Onitsuka M. et al., 1998; Bastany Z.J. et al., 2016]. Индукция гипогликемия введением инсулина вызывала отрицательные отклонения УПП, накопление внутриклеточного Ca^{2+} и увеличение концентрации K^{+} в межклеточной жидкости [Hübel N. et al., 2016]. Явления гиперкапнии в подобных условиях усугубляли состояние и увеличивали повреждение нейронов. Исследователи определили, что ацидоз при рН - 6,8-6,7 вызванный гиперкапнией увеличивал степень повреждения нейронов. В опытах *in vitro*, снижение концентрации глюкозы в среде с 11 до 2 ммоль, частичной заменой сахарозой до 9 ммоль, увеличивало чувствительность нейронов к эффектам гипоксии [Rogers H. et al., 1990]. В лаборатории при моделировании селективной окклюзии средней мозговой артерии в течение 90 мин. в условиях гипертермии до 40°C у крыс линии Wistar было установлено значимо большее увеличение объема инфаркта и более выраженное снижение УПП в сравнении с нормальными крысами [Chen Q. et al., 1993]. И наоборот, гипотермия в отличие от гипертермии уменьшала выраженность деполяризационных процессов и объем повреждения при ишемии,

гипоксии, травме, внутричерепной гипертензии и других воздействиях [Kaminogo M. et al., 1999; Fritz H. et al., 1999]. Травматическое повреждение головного мозга электрофизиологически мало отличается от ишемии. В острый период так же регистрируются отрицательные сдвиги УПП, сопровождающиеся депрессией или увеличением суммарной амплитуды ЭЭГ [Суфианова Г.З., 2003; Kubota M. et al., 1989; Nilsson P. et al., 1993]. Повышение внутричерепного давления приводило к снижению УПП [Rogatsky G. et al., 2003; Barbiro–Michaely E. et al., 2005]. Количество и продолжительность циклов РД, а также амплитуда снижения постоянного потенциала были связаны с выраженностью ВЧГ и с высокой вероятностью отражали степень повреждения ЦНС. Дополнительная индукция РД при повреждении головного мозга вызывает увеличение зоны повреждения [Otsuka H. et al., 2000; Torrente D. et al., 2014; Bastany Z.J. et al., 2016; Ghaemi A. et al., 2017]. Проведение терапии, направленной на снижение внутричерепной гипертензии значительно улучшало неврологические исходы и предотвращало развитие выраженной деполяризации нервной ткани [Barbiro-Michaely E. et al., 2005].

Таким образом, очевидно, что различные по своим первичным механизмам виды повреждения головного мозга всегда сопровождаются развитием деполяризационных процессов, что выражается отрицательными сдвигами УПП, амплитуда которых коррелируют с объемом повреждения нервной ткани, при этом, регистрация ЭЭГ менее информативна, так как в динамике нейродинамических патологических процессов во время повреждения может наблюдаться как увеличение амплитуды ЭЭГ, так и их депрессия. Регистрация УПП позволяет с большей достоверностью оценивать степень ишемического и травматического повреждения головного мозга [Суфианова Г.З., 2003; Mies G. et al., 1993; Sánchez-Porrás R. et al., 2015; Bastany Z.J. et al., 2016; Kiviniemi V. et al., 2017; Rodin E. et al., 2017; Lauritzen M., Strong A.J., 2017; Balança B. et al., 2017].

1.3. Биохимические маркеры повреждения ЦНС: NSE и S100 β

Поиск специфических маркеров различных патологических состояний стал неотъемлемой частью современной медицины. Использование биохимических маркеров повреждения нервной ткани, в частности, нейроспецифических белков плазмы крови, с учетом достаточной клинической доступности, возможности малоинвазивной диагностики и оценки прогноза повреждения нервной ткани привлекают врачей разных специальностей [Pelinka L.E. et al., 2004; Vos P.E. et al., 2004; Ekmektzoglou K.A. et al., 2007; Korfias S. et al., 2009; Strathmann F.G., 2014]. В данном литературном обзоре рассмотрим наиболее изученные нейроспецифические белки: нейронспецифическую енолазу (NSE) и белок S100 β [Undén J. et al., 2009; Yokobori S. et al., 2013; Senn R. et al., 2014], являющиеся специфичными биомаркерами повреждения ЦНС и используемые в проведении настоящего исследования. Нейронспецифическая енолаза (NSE) — внутриклеточный фермент центральной нервной системы, присутствующий в клетках нейроэктодермального происхождения (в нейронах головного мозга и периферической нервной ткани), единственный известный в настоящее время общий маркер всех дифференцированных нейронов [Kaiser E. et al., 1989; Cheng F. et al., 2014; Strathmann F.G., 2014]. В настоящее время существует несколько исследований, касающихся оценки NSE как потенциально эффективного биомаркера повреждения ЦНС [Yamazaki Y. et al., 1995; Ross S.A. et al., 1996; Bohmer A.E. et al., 2011; Zurek J. et al., 2012; Chabok S.Y. et al., 2012]. В 2012 году, Chabok S.Y. et al. изучил связь между концентрацией NSE в сыворотке крови и клиническими исходами у 28 пациентов с диффузным аксональным повреждением. Была обнаружена высокая корреляция между неблагоприятными исходами и увеличением концентрации NSE в сыворотке крови в первые 3 дня после травмы. В другом исследовании изучали закономерности изменения концентраций NSE и S100 β в сыворотке крови у 66 больных после ЧМТ и их связь с внутричерепными патологическими изменениями, выявленными по данным КТ головного мозга [Herrmann M. et al. 2000]. Концентрации S100 β и NSE существенным образом отличались у различных категорий больных с

фокальными ушибами головного мозга, диффузном аксональном повреждении и отеке головного мозга без локальных изменений. У пациентов с контузионными очагами уровень NSE был самым высоким в течение 1 суток после ЧМТ и уменьшался в течение 4х дней после травмы. С другой стороны, концентрация S100 β характеризовалась медленным повышением в течение первых 4-х суток исследования. Была выявлена корреляция между объемом контузионного очага, а также тяжестью повреждения ЦНС и концентрациями NSE и S100 β в сыворотке крови пациентов в первые сутки исследования. У пациентов с диффузным аксональным повреждением и у пациентов с признаками отека головного мозга пиковые сывороточные уровни NSE и S100 β были выявлены на 3 сутки. Исследователи сделали вывод, что закономерности повышения концентрации NSE и S100 β могут отражать различные патофизиологические последствия черепно-мозговой травмы. Таким образом, при заболеваниях, сопряженных с непосредственным вовлечением нервной ткани в патологический процесс, качественные и количественные определения этого белка в спинномозговой жидкости или сыворотке крови дают ценную информацию о степени выраженности повреждений нейронов и нарушениях общей целостности ГЭБ [Korfias S. et al., 2009; Cheng F. et al., 2014; Isgrò M.A. et al., 2015]. Несмотря на высокую диагностическую значимость данного биомаркера, NSE нельзя считать надежным специфическим маркером ЧМТ, поскольку повышение концентрации NSE в плазме крови может отмечаться в случаях, не связанных с повреждением головного мозга [Savola O. et al., 2004; Isgrò M.A. et al., 2015].

Другим не менее изученным нейроспецифичным белком, обнаруживаемым в плазме крови при ЧМТ, является нейроглиальный белок S100 β , впервые описанный Б.В. Моором в 1965 г. Данный белок вырабатывается и выделяется главным образом глиальными клетками и клетками Шванна центральной нервной системы [Wojtczak-Soska K., Lelonek M., 2010; Bouvier D., 2013]. Свое название белок получил, благодаря свойству оставаться в растворенном состоянии в насыщенном растворе сульфата аммония. Семейство белков S100 состоит из 17 тканеспецифичных мономеров, два из которых — а и b — образуют гомо и

гетеродимеры, присутствующие в высокой концентрации в клетках нервной системы. S100(bb) присутствует в высоких концентрациях в глиальных и шванновских клетках, гетеродимер S100(ab) находится в глиальных клетках, гомодимер S100(aa) — в поперечнополосатых мышцах, печени и почках [Bouvier D., 2013]. В 1998 году, Raabe A. и соавт. впервые описали взаимосвязь между объемом повреждения при тяжелой черепно-мозговой травме по данным КТ и концентрацией в сыворотке крови белков NSE и S100 β . В этом исследовании были сопоставлены концентрации начальных сывороточных уровней S100 β и NSE и данные КТ головного мозга у 44 пациентов. Была выявлена значительная корреляция между объемом ушиба мозга и концентрацией в сыворотке S100 β [Raabe A. et al., 1998-1999]. Тем не менее, в других исследованиях не была однозначно идентифицирована взаимосвязь выраженности внутричерепной патологии и уровнем S100 β в сыворотке крови [Akhtar J.I. et al., 2003; Geyer C. et al., 2009; Berger R.P. et al., 2005; Morochovic et al. 2009]. В 2004 году Pelinka et al. (2004), анализируя данные 92 пациентов с ЧМТ, показал перспективность оценки концентрации S100 β в сыворотке крови для дифференцировки между локальной и диффузной травмой головы. Так же было установлено, что повышение уровня S100 β и NSE в сыворотке крови и ликворе коррелирует с выраженностью внутричерепной гипертензии [Stein D.M. et al., 2011; Olivecrona Z. et al., 2015]. В 2012 году Vajtr D. et al. сообщили о возможности использования S100 β в качестве дифференциального диагностического биомаркера фокального и диффузного повреждения головного мозга. В этом исследовании, проведенном на 38 пациентах с ЧМТ, было установлено, что концентрация S100 β в сыворотке крови в среднем была выше в течение 10 дней после госпитализации у пациентов с очаговой травмой головного мозга в сравнении с диффузным аксональным повреждением. Таким образом, оценка концентрации белка S100 β в плазме крови имеет диагностическую значимость для дифференцировки диффузных повреждений от локальных травм ЦНС. По мнению ряда исследователей, определение концентрации данного белка в плазме крови позволяет прогнозировать неврологический исход повреждения ЦНС различного генеза.

Уровни S100 β на момент поступления в отделение лучше соотносятся с клинической тяжестью и представляют собой более надежный независимый показатель вероятности выживания пациента, чем баллы по шкале комы Глазго и уровни NSE [Wojtczak-Soska K., Lelonek M., 2010; Bouvier D., 2013; Yokobori S. et al., 2013; Strathmann F.G., 2014]. В то же время в оценке концентрации S100 β в сыворотке крови необходимо учитывать тот факт, что повышенный уровень этого белка был обнаружен у пациентов сразу же после получения множественных травм без повреждения головного мозга и также на моделях животных с переломом кости без каких-либо других травм [Savola O. et al., 2004; Routsis C. et al., 2006; Isgrò M.A. et al., 2015]. В результате экспериментальных исследований было установлено, что повышение уровня S100 β было вызвано геморрагическим шоком и было связано с тяжестью шока [Routsis C., et al., 2006]. Таким образом, вызывает сомнение, что прямое повреждение тканей центральной нервной системы является единственным источником выделения S100. Routsis C. и соавт. (2006) после первоначального наблюдения повышенного уровня белка S100 β у пациентов с тяжелой органной недостаточностью, но без травмы головного мозга выдвинули гипотезу, что гипоксия или любое другое нарушение в снабжении кислородом и/или перфузия тканей могут оказывать влияние на выделение белка S100 β . Низкий показатель среднего артериального давления, низкий гемоглобин, низкое содержание кислорода в артериальной крови (CaO₂) связаны с высоким уровнем S100 β . Увеличение концентрации S100 β положительно коррелирует с уровнем лактата и отрицательно со средним артериальным давлением и pH крови [Routsis C., et al., 2006].

Несмотря на достаточную эффективность исследования концентрации нейроспецифических белков плазмы крови для оценки тяжести и прогноза ЧМТ, изолированная оценка их концентрации не позволяет однозначно использовать их в качестве высокоспецифичных биомаркеров повреждения ЦНС [Savola O. et al., 2004; Routsis C., et al., 2006; Strathmann F.G., 2014]. Одновременное исследование нескольких маркеров дает наиболее информативную и достоверную картину

повреждения ЦНС, позволяет оценить состояние пациента и при необходимости провести коррекцию терапии [Yokobori S. et al., 2013; Strathmann F.G., 2014].

1.4. Нейропротекторная терапия ЧМТ: агонисты аденозиновых рецепторов

Традиционно основные усилия фармакологической защиты головного мозга при повреждении направлены на улучшение кровообращения в ишемизированной ткани мозга и ишемии, сосредоточены на коррекции церебральной перфузии, однако это не позволяет решить всех проблем лечения церебральной ишемии и имеет определенные ограничения, связанные с воздействием только на гемодинамический компонент патогенеза черепно-мозговой травмы [Davis S., Donnan G.A., 2014; Ip H.L., Liebeskind D.S., 2014; Tasker R.C., Duncan E.D., 2015; Broussalis E. et al, 2012; Babadjouni R.M. et al., 2017]. Внимание исследователей в последние годы привлекают так называемые нейропротекторные средства рецепторного действия, которые способны не только эффективно ограничивать зону деструктивных изменений, но и предотвращать структурные повреждения нервной системы, активно влияя на все звенья патологического ишемического каскада [Суфианова и соавт., 2014; Гусев Е.И. и соавт., 2014; Клочихина О.А., Стаховская Л.В., 2014; Miras-Portugal M.T. et al., 2015; Pérez-Sen R. et al., 2015; Shichita T. et al., 2014; Humphrey P.P.A., 1998; Miller R.J., 1998; Karsy M. et al., 2017; Broussalis E. et al, 2012; Babadjouni R.M. et al., 2017]. Потенциальными нейропротекторными свойствами обладают многие рецепторные препараты. В условиях эксперимента были выявлены нейропротекторные свойства блокаторов NMDA-рецепторов, влияющих на один из ключевых моментов ишемического каскада – механизмы глутаматной эксайтотоксичности [Савинкова И.Г., и соавт., 2013; Yu G. et al., 2015; Vahabzadeh G. et al., 2015; Wang P.F. et al., 2015; Karsy M. et al., 2017; Rajah G.B., Ding Y., 2017]. Однако их защитное действие было выявлено только на моделях фокальной ишемии, в условиях глобальной ишемии головного мозга их эффективность значительно снижается [Obrenovitch T.P., 2001; Wang P.F. et al., 2015]. Также

нейропротекторный эффект был обнаружен у агонистов серотониновых 5-HT₁-рецепторов и антагонистов 5-HT₂ рецепторов [Karsy M. et al., 2017; Rajah G.B., Ding Y., 2017], глицина, агонистов α₂-адренорецепторов [Karsy M. et al., 2017; Rajah G.B., Ding Y., 2017], b₁ адренорецепторов [Abdelkader N.F. et al., 2017], агонистов ГАМК [Кулинский В.И. и соавт., 2006; Rajah G.B., Ding Y., 2017; Delgado-Marín L. et al., 2017] и пуриновых, в частности, аденозиновых рецепторов [Zhai W. et al., 2016; Zamani M. et al., 2013; Laubach V.E. et al., 2011; Weisman G.A. et al., 2012; Burnstock G., 2009; 2013, 2014; Суфианова и соавт., 2014; Pérez-Sen R. et al., 2015; Cuomo O. et al., 2015; Miras-Portugal M.T. et al., 2015; Rajah G.B., Ding Y., 2017]. Как правило, все потенциальные нейропротекторные препараты из перечисленных групп реализуют свои эффекты путем воздействия на рецепторные механизмы «стратегии толерантности» при неблагоприятных ситуациях [Кулинский В.И. и соавт., 2006; Karsy M. et al., 2017]. Учитывая, что агонисты аденозиновых рецепторов являются аналогами естественных метаболитов, участвующих в процессах нейромодуляции и реализации множества физиологических функций ЦНС, а также являются важным компонентом комплексной эндогенной защиты головного мозга от повреждения в естественных условиях [Burnstock G., 2009; 2013, 2014; Huang Z.L. et al., 2014; Kashfi S. et al., 2016], данные препараты рассматриваются как наиболее перспективные лекарственные средства в коррекции патофизиологических и патобиохимических нарушений при черепно-мозговой травме и других заболеваниях ЦНС (рис. 1.1) [Zhai W. et al., 2016; Zamani M. et al., 2013; Laubach V.E. et al., 2011; Weisman G.A. et al., 2012; Burnstock G., 2009; 2013, 2014; Суфианова и соавт., 2014; Pérez-Sen R. et al., 2015; Cuomo O. et al., 2015; Kashfi S. et al., 2016; Zhai W. et al., 2016; Zamani M. et al., 2013; Sebastiao A.M, Ribeiro J.A., 2009; Laubach V.E. et al., 2011; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016].

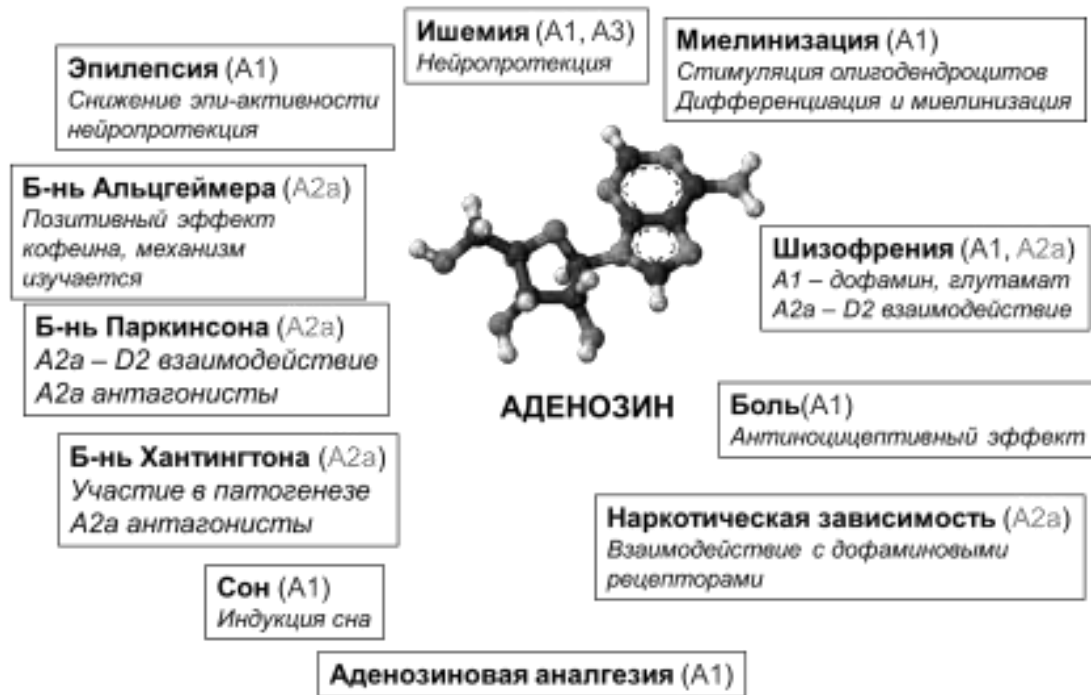


Рисунок 1.1 - Перспективы клинического использования агонистов аденозиновых рецепторов в клинической практике

[Sebastiao A.M, Ribeiro J.A., 2009]

В то же время, несмотря на достаточно успешный опыт использования данных препаратов (АТФ, аденозин, пентоксифиллин, рибоксин) в кардиологической и анестезиологической практике [Лебедев О.В., 2007; Петренко О.А., 2012; Fukunaga A. et al., 2003], потенциальные нейропротекторные свойства этих препаратов при травматических и острых сосудистых заболеваниях головного мозга изучены недостаточно.

О роли аденозина в нормальных патологических биохимических процессах стало известно с 40х годов прошлого века [Козловский В. И. и соавт., 2007; Jacobson K.A., et al., 1992; Fredholm B.B. et al., 2011; Huang Z.L. et al., 2014; Kashfi S. et al., 2016; Perez-Sen R. et al., 2015; Burnstock G., 2009, 2013, 2014; Pedata F. et al., 2016]. В настоящее время накопленные экспериментальные данные позволили установить ряд рецепторов на постсинаптических мембранах, через которые пурины реализуют свою активность [Burnstock G. et al., 2011; Perez-Sen R. et al.,

2015; Burnstock G., 2009, 2013, 2014; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016]. Было идентифицировано два основных вида рецепторов: P1 и P2 пуринорецепторы (рис. 1.2) [Burnstock G. et al., 2011; Burnstock G., 2014; Pedata F. et al., 2016; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016].

Аденозин, АТФ и АДФ являются агонистами P1 рецепторов, которые в свою очередь подразделяются на A1, A2a, A2b и A3 подтипы [Burnstock G., 2009; Pedata F. et al., 2016]. A1 рецепторы широко представлены в тканях организма и в ЦНС, где высокая концентрация этих рецепторов обнаружена в гиппокампе, коре головного мозга, таламусе, мозжечке, в спинном мозге и стволе [Stehle J.H. et al., 1992; Dixon A.K. et al., 1996; Romagnoli R. et al., 2015]. Аденозиновые A2a менее распространены, преимущественно они обнаруживаются на тромбоцитах, в спинном и головном мозге, гладкомышечных волокнах. Наибольшая концентрация этих рецепторов в ЦНС выявлена в областях, богатых дофаминовыми рецепторами [Preti D. et al., 2015; Ongini E., Fredholm B.B., et al., 2011; Svenningsson P. et al., 1997; Burnstock G. et al., 2011; Allard D. et al., 2017]. A2b рецепторы также обнаружены практически во всех тканях и органах, для их активации требуются высокие концентрации аденозина, было обнаружено наличие этих рецепторов практически во всех отделах ЦНС [Stehle J.H. et al., 1992; Dixon A.K. et al., 1996; Burnstock G., 2013; Allard D. et al., 2017].

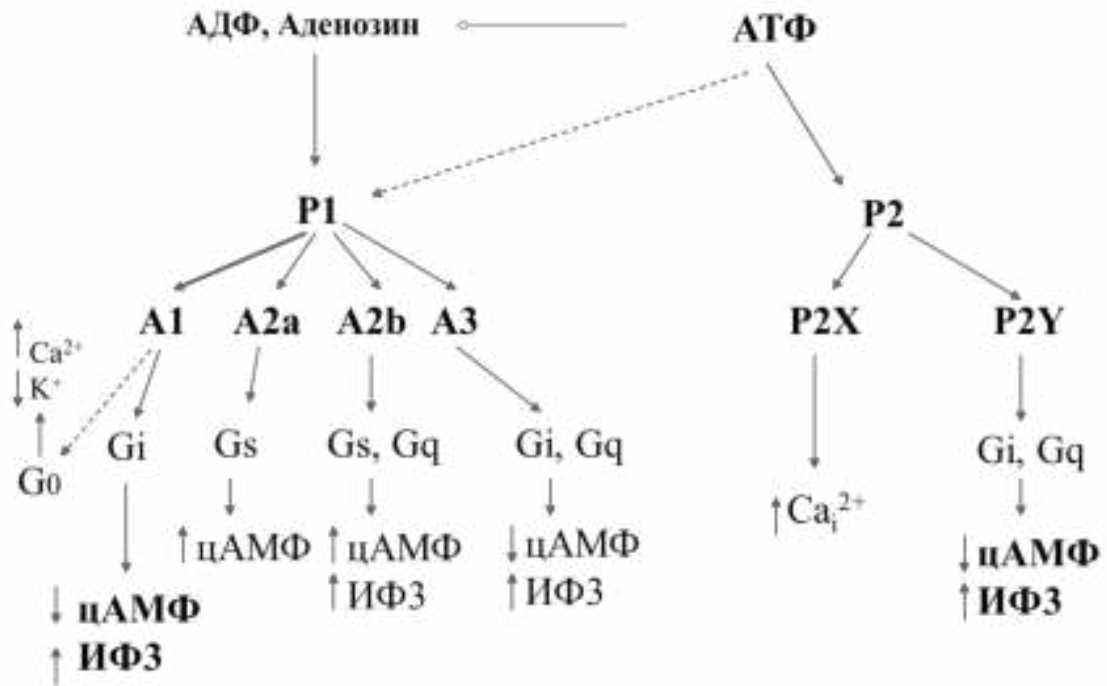


Рисунок 1.2 - Пуриновые рецепторы (механизмы трансдукции)

[Burnstock G., 2013]

P1-пуринорецепторы подразделяются на 4 подтипа: A1, A2a, A2b и A3. Все аденозиновые рецепторы связаны с G белками и состоят из 7 трансмембранных доменов. Рецепторы A2A и A2B сопряжены с Gs белками и опосредуют активацию аденилатциклазы. Аденозиновые рецепторы типов A1 и A3 сопряжены с Gi белками, которые подавляют аденилатциклазную активность. Дополнительно A1 рецепторы сопряжены с белком G_o, который опосредует ингибирование аденозином кальциевой проводимости. Рецепторы типов A2B и A3 сопряжены с Gq и стимулируют фосфолипазную активность. P2 рецепторы подразделяются на 2 основных класса: P2X рецепторы, представляющие собой семейство катион селективных ионных каналов, и P2Y — группу связанных с G-белками рецепторов. В настоящее время идентифицировано 7 подтипов P2X и 9 подтипов P2Y рецепторов. P2X рецепторы опосредуют быстрый трансмембранный перенос катионов (Na⁺, K⁺, Ca²⁺). Большинство эффектов P2Y рецепторов опосредуются через активацию фосфолипазы C, что приводит к увеличению концентрации ИФ3

и накоплению внутриклеточного Ca^{2+} . Активация некоторых P2Y рецепторов может сопровождаться ингибированием аденилатциклазы.

A3 рецепторы имеют широкое распределение в организме, но их физиологическая роль изучена недостаточно [Faas M.M. et al., 2017; Jones K.R. et al., 2017; Fishman P., Cohen S., 2016; Fredholm B.B. et al., 2011; Dixon A.K. et al., 1996; Burnstock G., 2014]. Самые высокие концентрации мРНК A3 рецепторов у человека обнаружены в легких, печени и с более низкими уровнями в аорте и головном мозге [Jones K.R. et al., 2017; Burnstock G., 2013].

Биологическая роль аденозиновых (P1) рецепторов в норме и в патогенезе многих заболеваний изучена достаточно хорошо [Pedata F. et al., 2016]. В ЦНС A1 рецепторы расположены пре- и постсинаптически на телах нейронов, аксонах и вызывают торможение синаптической передачи. Стимуляция A1 рецепторов приводит к уменьшению выпуска нейротрансмиттеров, гиперполяризации мембраны клеток, уменьшению возбудимости и подавлению спонтанную импульсную активность нейронов ЦНС [Козловский В. И. и соавт., 2007; Nikodijevic O. et al., 1991; Malhotra J., Gupta Y.K., 1997; Zhai W. et al., 2016; Zamani M. et al., 2013; Laubach V.E. et al., 2011; Kashfi S. et al., 2016; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016]. В норме аденозин выполняет функцию регулятора внутриклеточного Ca^{2+} , изменяя возбудимость клетки, а также регулирует проницаемость для ионов K^+ [Козловский В. И. и соавт., 2007; Kashfi S. et al., 2016]. А-агонисты значительно изменяют электрофизиологическую активность ЦНС. Установлено, что введение аденозина и селективных агонистов A1 рецепторов вызывает поляризацию структур головного мозга и угнетение суммарной амплитуды ЭЭГ [Козловский В. И. и соавт., 2007; Суфианова Г.З., 2003; Kashfi S. et al., 2016]. В спинном мозге стимуляция A1 рецепторов подавляет синаптическую передачу, при этом одновременная активация A1 и A2 аденозиновых рецепторов облегчает торможение постсинаптического нейрона [Brooke R.E. et al., 2004]. Установлено, что A1 рецепторы участвуют в модуляции ноцицептивной трансмиссии в спинном мозге и на периферии [Reeve A.J., Dickenson A.H., 1995; Karlsten R. et al., 1992; Ocana M., Baeyens J.M., 1994]. При

интрацеребровентрикулярном и интратекальном введении аденозина и его аналогов отмечается существенное повышение порога болевой чувствительности [Herrick-Devis K. et al., 1989; De Lander G.E., Hopkins C.J., 1986]. В опытах на животных и у людей с хронической нейропатической болью установлен выраженный анальгетический эффект аденозина при интратекальном введении [Eisenach J.C. et al, 2002; Obata H. et al., 2004; Bantel C. et al., 2002].

Существует множество исследований, в которых установлен выраженный нейропротекторный эффект аденозина и его аналогов. Защитное действие аденозина связывают с преимущественно активацией A1 рецепторов [Dora C.D., et al., 1998; Zhang Q. et al., 2000; Kitagawa H., et al., 2002; Суфианова Г.З., 2003; Суфианова Г.З. и соавт., 2015; Zhai W. et al., 2016; Zamani M. et al., 2013; Laubach V.E. et al., 2011; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016]. В ряде работ было показано седативное и противосудорожное действие A1 агонистов [Nikodijevic O. et al., 1991; Jain N. et al., 1995; Malhotra J., Gupta Y.K., 1997; Козловский В. И. и соавт., 2007; Суфианова Г.З. и соавт., 2014]. Подобные эффекты аденозина и его аналогов связаны со способностью этих препаратов подавлять процессы ишемической деполяризации и освобождение возбуждающих аминокислот и других нейротрансмиттеров, играющих важную патогенную роль в ишемическом повреждении нейронов [Heron A.,1993; Суфианова и соавт., 2014; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016].

Эффекты активации A2a рецепторов, особенно в центральной и периферической нервной системе, в основном противоположны эффектам A1 агонистов [Kafka S.H., Corbett R.,1996; Preti D. et al., 2015], антагонисты этих рецепторов рассматриваются как возможные препараты при лечении психических заболеваний [Rimondini R. et al., 1997; Preti D. et al., 2015; Krügel U., 2016]. Доказана определенная роль данных рецепторов в развитии противовоспалительного эффекта в период реперфузии после ишемии [Jordan J.E. et al., 1997]. Стимуляция A2b рецепторов на гладкомышечных клетках и эндотелии сосудов вызывает вазодилатацию, которая не связана с активацией A2a рецепторов [Yadav V.R. et al., 2015; Allard D. et al., 2017]. Стимуляция A3

рецепторов сопровождается снижением артериального давления [Fozard J.R., Hannon J.P., 1994; Fishman P., Bar-Yehuda S., 2003; Faas M.M. et al., 2017]. Однако гипотоническая реакция при этом может быть связана с вторичным выбросом гистамина при активации А3 рецепторов тучных клеток [Hannon J.P. et al., 1995; Fishman P., Bar-Yehuda S., 2003; Faas M.M. et al., 2017; Jones K.R. et al., 2017; Fishman P., Cohen S., 2016]. Системное введение селективного А3 агониста 3-IB-МЕСА сопровождалось подавлением двигательной активности у мышей, что предполагает участие этих рецепторов в модуляции поведения [Jacobson K.A. et al., 1993]. Активация А3 рецепторов активизирует клеточную антиоксидантную защиту, увеличивая активность супероксид-дисмутазы, каталазы и глутатион-редуктазы, что может дополнительно играть роль в механизмах цитопротекторного действия аденозина и его аналогов [Fishman P., Bar-Yehuda S., 2003; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016]. В настоящее время препараты аденозина нашли применение в кардиологии для купирования аритмий, а также в анестезиологической практике при проведении т.н. «пуриновой анальгезии» [Loeser J. D. et al., 1986; Sollevi A. et al., 1992; Fukunaga A. F. et al., 2003; Fukunaga A. F. et al., 1998; Zarate E. et al., 1999; Лебедев О.В., 2007; Лебединский К.М., Карелов А.Е., 2006; Карелов А.Е., 2005; Лебедев О.В., 2007; Боровов Ю.М., 2011; Lopes L.V. et al., 2011; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016]. Впервые обезболивающий эффект аденозина был показан в работе J. D. Loeser (1986). Возможность использования пуриновых агонистов при проведении наркоза была продемонстрирована в работе Sollevi A. и соавт. в 1992 г. при операциях на шее, молочной железе и плечевом суставе у 7 пациенток. В последующие несколько лет две американские исследовательские группы установили, что сила анальгетического эффекта пуринов в интраоперационном периоде сопоставима с одним из наиболее сильных опиоидных анальгетиков - ремифентанилом и достаточна для обеспечения анальгезии при хирургических вмешательствах [Fukunaga A. F. et al., 2003; Fukunaga A. F. et al., 1998; Zarate E. et al., 1999]. В России были опубликованы ряд работ, посвященных использованию АТФ в клинической анестезиологической практике, и успешно защищены несколько

диссертационных исследований [Лебединский К.М., Карелов А.Е., 2006; Карелов А.Е., 2005; Лебедев О.В., 2007; Боровов Ю.М., 2011]. Во всех случаях авторы отмечали высокую анальгетическую активность и достаточную управляемость пуриновой анальгезии. В то же время, большинство исследователей сходятся во мнении, что более широкое использование АТФ и аналогов в анестезиологической практике сдерживается отсутствием четко обоснованных показаний и методик его применения, в том числе и у пациентов с сопутствующей сердечно - сосудистой патологией. Необходимо отметить крайне ограниченное количество публикаций, показывающих возможность использования агонистов аденозиновых рецепторов как нейропротекторов в клинической практике [Суфианова Г.З., 2003; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016]. На наш взгляд, учитывая основные известные звенья патогенеза черепно-мозговой травмы, именно аденозин и его производные наиболее интересны с точки зрения нейропротекции.

Таким образом, анализ литературы позволяет предположить значительный нейропротекторный потенциал у агонистов аденозиновых рецепторов, однако, несмотря на достаточно успешный опыт использования данных препаратов в кардиологической и анестезиологической практике [Fukunaga A. et al., 1998; Дружинина Е.Л., 2011; Петренко О.А., 2012; Лебедев О.В., 2007; Боровов Ю.М., 2011; Melani A. et al., 2014; Pedata F. et al., 2016], их клиническая эффективность при повреждении ЦНС требует проведения дополнительных исследований.

Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Общая характеристика клинических и экспериментальных исследований

Поставленные в диссертационном исследовании задачи требуют комплексного электрофизиологического, патобиохимического и морфологического подхода как в эксперименте на животных, так и в клинической практике. В связи с этим, нами были спланированы инвазивные экспериментальные исследования на крысах и проведен ретроспективный анализ клинических исходов и изменения биохимических маркеров повреждения ЦНС в условиях комплексной нейропротекторной терапии в острый период ЧМТ на базе нейрохирургического отделения ГБУЗ ТО Областной клинической больницы №2 г. Тюмени.

2.1.1. Объекты исследования и используемые препараты

Работа выполнена на 30 здоровых беспородных крысах-самцах, весом 180-220 г. До экспериментов животных содержали в лабораторном виварии при температуре помещения 18-22 °С и естественном световом режиме; использовали стандартную диету, состоящую из брикетированного корма, овощей и воды. Опыты на животных осуществляли согласно «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР N 755 от 12.08.1977 г.). Все экспериментальные исследования были одобрены локальным этическим комитетом Тюменского государственного медицинского университета. Вживление электродов, а также другие инвазивные процедуры (трепанация черепа, локальное дозированное сдавление головного мозга) проводились под адекватным обезболиванием (золетил-100, 7,5 мг/кг, внутривенно).

В соответствии с целями исследования все животные были разделены на 3 основные группы: 1 (ложнооперированная) группа (n=8) была представлена животными только с внутрибрюшинным (в/б) введением физиологического раствора (NaCl 0,9% 0,01 мл) без последующего моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга; во 2 (контрольной) группе (n=12) за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга в/б предварительно вводили 1 мл физиологического раствора NaCl (0,9%); в 3 (основной экспериментальной) группе (n=10) за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга в/б предварительно вводили 50 мг/кг АТФ. Объем раствора АТФ вводился с учетом массы животного и концентрации 10 мг/мл (1%).

В качестве основного исследуемого нейропротекторного препарата во всех опытах использовался 1% (10 мг/мл) раствор натрия аденозинтрифосфат (АТФ-Na, АТФ) (ООО Виал, Россия). Введение АТФ за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга в первой экспериментальной группе было выбрано, исходя из данных литературы, с учетом быстрой биодegradации АТФ до аденозина и скорости всасывания данного препарата в брюшной полости [Козловский В. И. и соавт., 2007; Burnstock G. et al., 2011; Burnstock G., 2014], что позволяет говорить не только о профилактическом нейропротекторном действии, но и об его непосредственном протекторном эффекте в момент развития ишемических процессов в нервной ткани. Эффективная нейропротекторная доза препарата с использованием различных моделей ишемии головного мозга была подобрана в более ранних исследованиях [Суфианова Г.З. и соавт., 2014, 2015].

У всех обследуемых животных, с целью определения концентрации нейроспецифических белков (NSE и S-100b), производилось исследование образцов плазмы венозной крови, полученной путем пункции хвостовой вены за сутки до и на 1, 3 и 5 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга. Содержание NSE и S-100b определяли количественно на анализаторе Elecsys1010 (Швейцария). Концентрацию

нейроспецифической енолазы (NSE) в плазме крови выражали в мкг/мл, концентрацию белка S100 β в нг/мл. У всех экспериментальных животных, участвовавших в данном исследовании, параллельно осуществлялась ежедневная регистрация спонтанной биоэлектрической активности головного мозга. На 5 сутки головной мозг животных сразу же после извлечения из черепной коробки помещали в забуференный по Лилли 10% раствор формалина. Готовили серийные срезы толщиной 10 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. Исследовали фронтальные срезы на уровне локального компрессионного повреждения. Оценку степени гистопатологических изменений при моделировании необратимой ишемии производили по 4х бальной гистопатологической шкале (таблица 1)

Таблица 1 - Шкала гистопатологических нарушений

Балл	Описание нарушений
0	Норма: отсутствие гистопатологических нарушений
1	Умеренные ишемические нарушения: повреждение не более 25% нервных клеток, умеренно-выраженный глиоз, периваскулярный и перицеллюлярный отек
2	Выраженные ишемические нарушения: повреждение 25-50% нервных клеток, выраженный глиоз, периваскулярный и перицеллюлярный отеки, кортикальные и субкортикальные кровоизлияния
3	Грубые ишемические нарушения: повреждение более 50% нервных клеток, выраженный глиоз, сетчатый отек, кортикальные и субкортикальные кровоизлияния

2.1.2. Моделирование локального компрессионного повреждения головного мозга

Известно, что результаты исследований не всегда могут иметь адекватное клиническое подтверждение. Основной причиной данного явления является

плохая взаимосвязь экспериментальной модели аналогичной патологической ситуации в клинике, что обуславливает вопрос выбора адекватной экспериментальной модели соответствующей патологии, в частности, травматического повреждения нервной ткани. Достаточно часто ЧМТ сопровождается не только развитием контузионных процессов в момент травмы, но и механической тракцией мозговой ткани и компрессией мозговых сосудов в последующие периоды, что приводит к развитию вторичных ишемических нарушений. Важным моментом для исследования патофизиологических механизмов повреждения головного мозга является воспроизводимость полученных результатов. Существующие модели контузионного повреждения мозга в результате удара не позволяют добиться однозначных результатов. С нашей точки зрения, наиболее удобной для исследования поляризационных процессов и хорошо воспроизводимой моделью механического и вторичного ишемического повреждения головного мозга является локальное компрессионное повреждение [Watanabe S. et al., 2001; Суфианова Г.З., 2003; Суфианов А.А. и соавт., 2006]. Данная методика приводит к практически однотипным, высокоспецифическим сдвигам уровня поляризации нервной ткани, связанным с объемом и длительностью повреждения [Суфианова Г.З., 2003; Суфианов А.А. и соавт., 2006]. Используемая методика повреждения головного мозга является моделью достаточно распространенных патологических состояний, связанных с длительной компрессией структур головного мозга в результате ЧМТ, а также ретракционного повреждения в ходе длительных хирургических вмешательств на головном мозге, сопровождающихся механической компрессией и ишемией нервной ткани [Watanabe S. et al., 2001; Суфианова Г.З., 2003].

С целью моделирования повреждения, животное фиксировали в стереотаксическом аппарате (рис. 2.1а). С помощью бора в правой теменной области создавали трепанационное окно диаметром 4 мм и обнажали твердую мозговую оболочку (ТМО) головного мозга (рис. 2.1б). Компрессионно-ишемический очаг создавали путем транзиторного 30 минутного сдавления поверхности коры головного мозга крысы тефлоновым стержнем диаметром 3 мм

(площадь основания $28,3 \text{ мм}^2$). Стержень крепился в манипуляторе стереотаксического аппарата и устанавливался на поверхность ТМО головного мозга (рис. 2.1в). Повреждение создавалось путем его дозированного погружения на глубину 3 мм (рис. 2.1г). Степень оптимального уровня компрессии коры головного мозга была выявлена ранее, при проведении специального исследования [Суфианова Г.З., 2003; Суфианов А.А. и соавт., 2006]. После окончания периода компрессии головного мозга проводилась пластика посттрепанационного дефекта с имплантацией в зону компрессии эпидурального электрода.

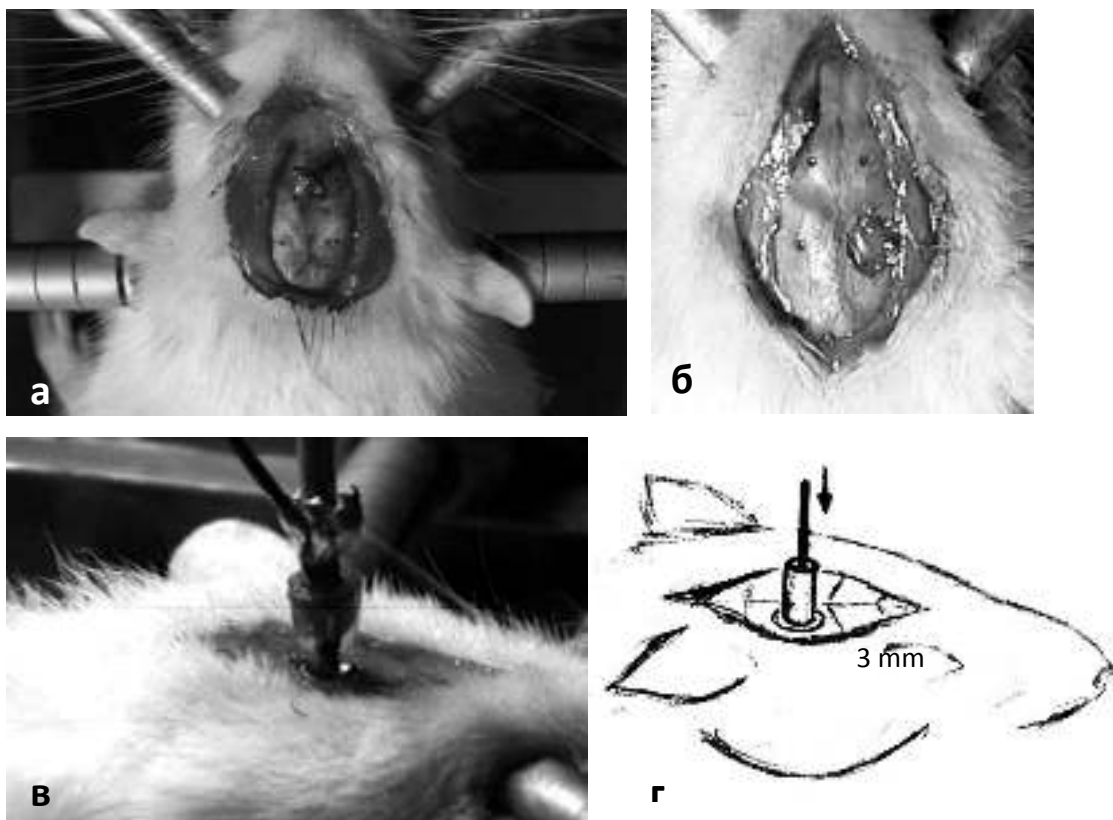


Рисунок 2.1 - Этапы моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга у крысы: а – фиксация в стереотаксическом аппарате и высверливание отверстий для имплантации электродов; б– трепанационное окно в правой теменной области; в – установка стержня на поверхность твердой мозговой оболочки и локальная компрессия коры головного мозга; в – общая схема моделирования локального компрессионного повреждения коры головного мозга

2.1.3. Методика имплантации эпидуральных электродов и исследования функционального состояния головного мозга

Для регистрации электрофизиологических параметров под адекватным обезболиванием (Золетил-100, 7,5 мг/кг) после предварительной фиксации животного в стереотаксическом аппарате осуществляли вживление хлорсеребряных электродов под кости черепа над лобной и теменной корой правого и левого полушарий (рис. 2.1а). С этой целью, в черепе высверливались отверстия диаметром 300-500 мкм. При этом, с целью моделирования локального компрессионного повреждения, в правой теменной кости высверливалось трепанационное окно диаметром 4 мм (рис. 2.1б). После окончания периода компрессии головного мозга проводилась пластика посттрепанационного дефекта с имплантацией в зону компрессии эпидурального электрода. Индифферентный электрод крепился в носовых костях черепа. Крепление электродов осуществлялось с помощью быстроотвердевающей пластмассы («Акродент»).

Оценку функционального состояния головного мозга осуществляли ежедневно до и в последующие 5 суток после моделирования повреждения головного мозга путем регистрации УПП, отражающего уровень поляризации нервной ткани. Запись электрофизиологических показателей осуществлялась непрерывно в течении 20-30 минут после стабилизации электроэнцефалограммы. Регистрация биоэлектрической активности проводилась с 4х точек коры головного мозга по униполярной методике с помощью усилителя постоянного тока с входным сопротивлением 10^{12} Ом. Полученные данные оцифровывались с частотой 512 Гц и вводились в компьютер для дальнейшей математической обработки. Для вычисления УПП проводили усреднение 10-30 сек безартефактных участков записи сверхмедленной активности головного мозга.

2.2. Общая характеристика клинических исследований

2.2.1. Описание клинических групп

Проведено ретроспективное исследование с участием 43 пациентов мужского пола в возрасте от 25 до 55 лет, госпитализированных в отделение нейрохирургии ОКБ №2 (г. Тюмень) в период с 2011 по 2013 гг. по поводу тяжелой черепно-мозговой травмы. У всех пациентов или их представителей было взято согласие на проведение исследований и сбор необходимого клинического материала в соответствии с законодательством РФ. Данное клиническое исследование было одобрено локальным этическим комитетом Тюменского государственного медицинского университета.

В соответствии с целями исследования, все пациенты были разделены на 2 основные клинические группы. Первая (контрольная) группа была представлена 18 пациентами (средний возраст $42,5 \pm 11,9$ г.) с верифицированной черепно-мозговой травмой. Вторая (основная) клиническая группа была представлена 14 пациентами (средний возраст $41,6 \pm 12,3$ г.). С момента поступления и в течение 3х суток у данных пациентов в составе комплексной нейропротекторной терапии проводилась пролонгированная внутривенная инфузия 1% (10 мг/мл) раствора натрия аденозинтрифосфата (ООО ВИАЛ, Россия) в дозе 0,5мг/кг/час в течение 2х часов 3 раза в сутки. Пролонгированное введение раствора АТФ осуществляли под контролем артериального давления с использованием автоматизированной шприцевой инфузионной системы Перфузор Спэйс (B. Braun Melsungen AG, Germany).

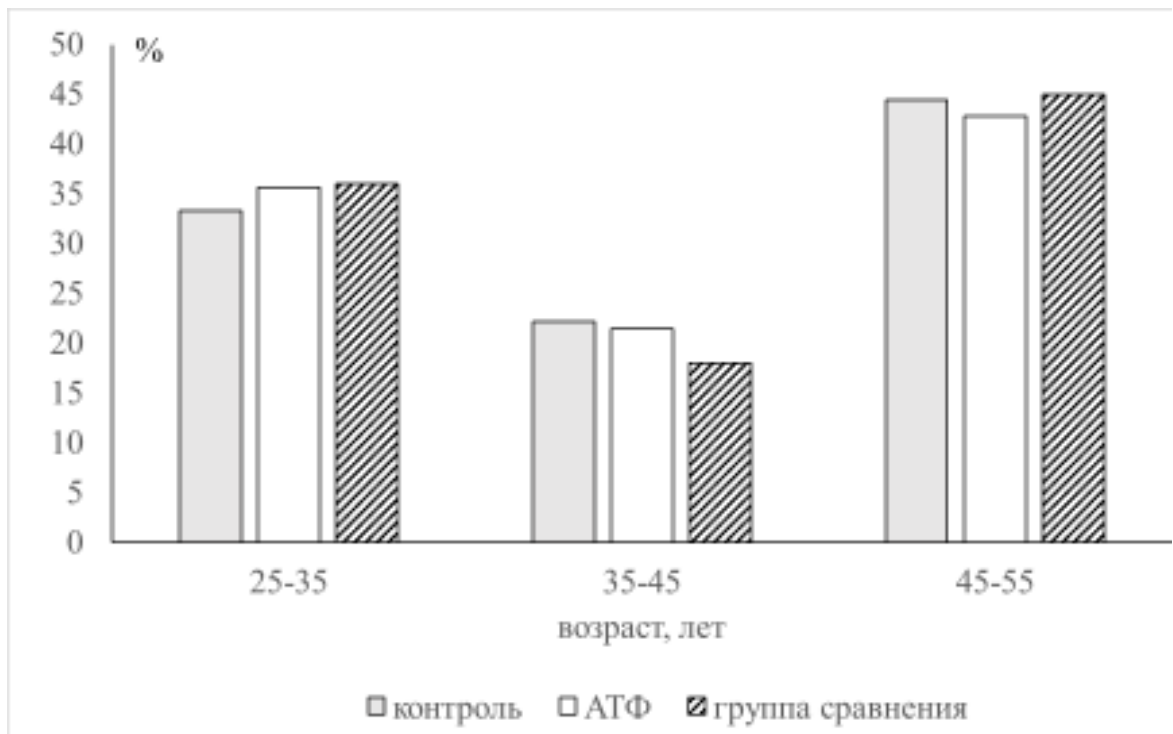


Рисунок 2.2 - Распределение пациентов различных групп по возрасту: Группа сравнения – группа условно здоровых волонтеров (N=11); ЧМТ – контрольная клиническая группа пациентов с ЧМТ (N=18), ЧМТ+АТФ – основная клиническая группа пациентов с ЧМТ, которым проводилась в/в инфузия АТФ (N=14).

Для сравнительной оценки содержания нейроспецифических белков плазмы крови была обследована третья (сравнительная) условно здоровая группа из 11 пациентов в возрасте от 25 до 55 лет (средний возраст $42 \pm 10,0$ лет), проходивших амбулаторное наблюдение в условиях поликлиники по поводу иных, не неврологических и нейрохирургических заболеваний. Распределение пациентов в различных группах по возрасту представлено на рис. 2.2. Статистических различий по этим параметрам между группами не было.

Все пациенты первой и второй клинических групп были госпитализированы в экстренном порядке с единичными или множественными очаговыми травматическими паренхиматозными повреждениями головного мозга, подтвержденными с помощью КТ. Тяжесть ЧМТ во всех случаях была обусловлена ушибом, отеком-набуханием головного мозга или диффузным

аксональным повреждением головного мозга. Тяжесть повреждения головного мозга и уровень сознания пациентов при поступлении в стационар оценивали по шкале комы Глазго (ШКГ). В остром периоде тяжелой ЧМТ в клинической картине, как правило, доминирует общемозговая симптоматика, и существенным фактором, определяющим выживаемость пациентов в этот период при отсутствии декомпенсированных повреждений внутренних органов, является сохранность центральных витальных функций. Поэтому для оценки потенциального нейропротекторного действия того или иного лекарственного препарата в остром периоде повреждения ЦНС достаточно проведения комплексной оценки сохранности данных функций и выживаемости пациентов на фоне проводимой терапии.

По показаниям, во всех клинических группах проводились стандартные реанимационные мероприятия и интенсивная терапия. Всем пациентам была обеспечена искусственная вентиляция легких (ИВЛ) с постоянным мониторингом гемодинамических показателей, а при необходимости – внутричерепного давления (ВЧД), необходимые реанимационные мероприятия и интенсивная терапия. Во всех случаях проводились стандартные лабораторные обследования и КТ в динамике.

2.2.2. Критерии отбора пациентов

Общими критериями включения пациентов в данное исследование являлись согласие пациента или его официального представителя на проведение исследуемого метода нейропротекции и отсутствие противопоказаний к введению АТФ, возраст от 25 до 55 лет, мужской пол.

Отбор пациентов проводили после ознакомления с данными анамнеза, клинических и лабораторно-инструментальных методов исследования, после установления точного диагноза и плана лечения, выявления противопоказаний. Противопоказанием к назначению АТФ были гормонозависимая форма бронхиальной астмы, АВ блокады любой степени, блокада левой ножки пучка Гиса, артериальная гипотензия любого происхождения, тромбоцитопения,

тромбоцитопатия, стенокардия напряжения IV функционального класса, подагра, наличие сопутствующей патологии, которая могла бы быть усугублена инфузией АТФ или ситуацией, когда влияние инфузии на этот вид патологии было неизвестно.

В исследование не включались пациенты, которым требовалось или проводилось оперативное лечение. Критериями исключения пациентов из исследования также были неизвестный анамнез, перенесенная ЧМТ легкой степени без существенного нарушения сознания; любые другие перенесенные или текущие заболевания, сопровождающиеся поражением ЦНС (ишемический и геморрагический инсульты, эпилепсия, рассеянный склероз, болезнь Паркинсона, гидроцефалия, перенесенные острые воспалительные и онкологические заболевания ЦНС); злокачественные новообразования любой локализации; шизофрения, депрессия и другие психические расстройства; злоупотребление или зависимость от алкоголя или других психоактивных веществ; соматические заболевания в стадии декомпенсации (инфаркт миокарда в анамнезе, тяжелые формы ишемической болезни сердца, сердечная, легочная, почечная, печеночная недостаточность; эндокринные заболевания, требующие заместительной или корригирующей терапии; показатели крови — гемоглобин ниже 90 г/л; эритроциты менее $3,5 \cdot 10^{12}$; лейкоциты менее $3,5 \cdot 10^9$ и более $10 \cdot 10^9$; СОЭ более 15 мм/ч; вирусный гепатит В, С, D в активной фазе и стадии хронизации (при наличии измененных биохимических показателей); ВИЧ-инфекция, венерические заболевания в активной фазе, аллергические реакции на любой компонент как основной, так и базисной терапии, беременность и лактация.

2.2.3. Обоснование используемой дозы и протокол введения аденозинтрифосфата в остром периоде ЧМТ

Теоретические предпосылки, данные собственных и международных экспериментальных и клинических работ, приведенные в обзоре литературы, информация из инструкции для применения АТФ, одобренная Фармакологическим комитетом России, сформировали предпосылки для более

глубокого изучения нейропротекторных свойств и практической возможности применения АТФ в клинической нейрохирургической практике. В разработке дизайна клинического использования АТФ в остром периоде ЧМТ в качестве методических рекомендаций по контролю соматического статуса, способам пролонгированного введения и дозам АТФ были использованы работы отечественных и зарубежных авторов по пуриновой анальгезии [Лебединский К.М., 2000; Segerdahl M. et al., 2004; Карелов А.Е. и соавт., 2006; Лебединский К.М., Карелов А.Е., 2006; Лебедев О.В., 2007; Карелов А.Е., 2006, 2008, 2009; 2010; 2012].

Согласно данным рекомендациям, клинически эффективная анальгезирующая доза АТФ находится в пределах 0,5-5 мг/кг/час. Системное введение АТФ в рекомендованных дозах вызывает выраженный обезболивающий эффект без существенных побочных гемодинамических эффектов у хирургических пациентов и в сочетании с традиционной опиоидной анальгезией позволяет повысить качество обезболивания [Лебединский К.М., 2000; Segerdahl M. et al., 2004; Карелов А.Е. и соавт., 2006; Лебединский К.М., Карелов А.Е., 2006; Лебедев О.В., 2007]. Согласно данным литературы, при использовании АТФ в составе комбинированной терапии нежелательных лекарственных взаимодействий не выявлялось. [Лебединский К.М., 2000; Карелов А.Е., 2006, 2012; Лебедев О.В., 2007]. Учитывая быструю биodeградацию, хорошую управляемость фармакологических эффектов данного препарата, в том числе и с использованием антагониста аденозиновых рецепторов – теофиллина, инфузия АТФ представляется достаточно безопасной. В целях безопасности введения, все авторы отмечают необходимость абсолютного исключения болюсного введения препарата, о чем дополнительно рекомендуют проинструктировать средний медицинский персонал [Карелов А.Е., 2012]. Учитывая достаточно быструю биodeградацию и относительно короткий период действия АТФ, а также возможность развития сердечно-сосудистых побочных эффектов (брадикардия, АВ блокада, гипотония, бронхоспазм) в случае быстрого фракционного внутривенного введения этого препарата, АТФ необходимо вводить только в/в

продолжено с использованием автоматической инфузионной системы [Лебединский К.М., 2000]. Также при использовании агонистов аденозиновых рецепторов стандартом является проведение мониторинга, включающего непрерывное наблюдение квалифицированного персонала, ЭКГ, пульсоксиметрию, неинвазивный контроль артериального давления, функции дыхания и, при наличии технической возможности, внутричерепного давления. С целью профилактики возможных нежелательных эффектов пуринов, обязательным является наличие в распоряжении врача антагониста аденозиновых рецепторов – теофиллина в лекарственной форме для внутривенного введения (в дозе 3–4 мг/кг). Показанием к введению теофиллина является ситуация, когда любой из нежелательных эффектов пуринов сохраняется через 3–5 мин после прекращения внутривенной инфузии аденозинтрифосфата натрия [Карелов А.Е., 2012].

В нашем исследовании, при назначении аденозинфосфата и его пролонгированном введении у пациентов с ЧМТ мы соблюдали все приведенные условия и клинические рекомендации по мониторингу соматического статуса пациентов. Протокол использования АТФ в нашем клиническом исследовании включал пролонгированную внутривенную инфузию 1% (10 мг/мл) раствора натрия аденозинтрифосфата (ООО ВИАЛ, Россия) с использованием автоматизированной шприцевой инфузионной системы Перфузор Спэйс (B. Braun Melsungen AG, Germany). Темп инфузии постепенно наращивали каждые 2 минуты в течение 10 минут до 0,5 мг/кг/час. Инфузию продолжали не менее 2х часов, в конце инфузии также постепенно, в течение 10-15 минут, снижали темп инфузии АТФ с последующим отключением системы. Инфузию раствора АТФ повторяли 3 раза в сутки в течение 3х дней с момента поступления.

В качестве обоснования использования АТФ в клинике в дозе 0,5 мг/кг/час и соответствия ее объему аденозинфосфата в экспериментальном разделе исследования необходимо отметить, что дозирование лекарственных веществ на единицу массы тела не всегда эквивалентно у представителей различных видов животных и человека и зависит от многих факторов: возраста, веса, размеров, физиологических особенностей и скорости метаболизма у каждого конкретного

биологического вида [Мозгов И.Е., 1985; Белов А.Д. и соавт., 1992]. Исходя из известных соотношений площадей тела и скоростей метаболизма, эквивалентная доза нейротропных препаратов для крыс может превышать аналогичную дозу у человека в 50-100 раз [Белов А.Д. и соавт., 1992; Иванов А.А., 2007]. В соответствии с этими данными, используемая нами в эксперименте у крыс нейропротекторная доза АТФ в 50 мг/кг должна соответствовать примерной эквивалентной нейропротекторной дозе 0,5-1 мг/кг у человека. Таким образом, используемая нами в клинической практике нейропротекторная доза АТФ (0,5 мг/кг/час) эквивалентна нейропротекторным дозам данного препарата из экспериментального раздела исследования и укладывается в диапазон допустимых эффективных безопасных доз данного препарата, применяемых для индукции пуриновой анальгезии в соответствующих публикациях других авторов (0,5-5 мг/кг/час) [Segerdahl M. et al., 2004; Лебедев О.В., 2007; Карелов А.Е., 2012].

2.2.4. Методы клинических исследований

Обследование пациентов контрольной и основных клинических групп проводили согласно принятым медико-экономическим стандартам. Оно включало: 1) клинико-неврологический осмотр (всем пациентам); 2) компьютерную томографию (КТ) головного мозга и костей черепа (всем пациентам); 3) нейроофтальмологическое обследование (всем пациентам); 4) электрофизиологические исследования (ЭЭГ и вызванные потенциалы – по показаниям); 5) лабораторные биохимические исследования крови и ликвора (по показаниям); 6) динамическое исследование концентрации в крови биохимических маркеров повреждения - NSE и S-100 (всем пациентам); 7) другие инструментальные исследования (ЭКГ, УЗИ брюшной полости, рентгенография грудной клетки, КТ брюшной и грудной полости, МРТ и КТ позвоночника и др. исследования с целью исключения сопутствующей патологии – по показаниям).

Основными методами обследования, важными для выполнения целей настоящего исследования, были клинико-неврологический осмотр с оценкой

клинических исходов и уровня сознания по шкале комы Глазго, а также динамическое определение в крови концентрации биохимических маркеров повреждения - NSE и S-100b. Все остальные методы обследования являлись дополнительными и были необходимы для оценки критериев включения и исключения пациентов. Необходимо отметить, что, учитывая ретроспективный поисковый характер данного клинического исследования, а также необходимость строго следования медико-экономическим стандартам лечения ЧМТ, возможности активно влиять на назначение тех или иных методов обследования пациентов не предусматривалось. В соответствии с целями и задачами, проводилось только изучение влияния назначения АТФ в остром периоде по существующим клиническим показаниям на течение и исходы ЧМТ, концентрацию нейроспецифических белков плазмы крови и оценка взаимосвязи данных показателей.

Клинико-неврологический осмотр

Целью комплексного клинико-неврологического обследования являлась динамическая оценка особенностей неврологических проявлений в остром периоде ЧМТ. Клиническую диагностику проводили согласно общепринятым в неврологии правилам, что включало в себя сбор анамнеза (механизм и сроки травмы), оценку соматического и неврологического состояний, оценку уровня сознания. При неврологическом осмотре учитывали общемозговые симптомы, функцию черепных нервов, состояние двигательной системы. При оценке клинических проявлений патологического процесса обращали внимание на степень общемозговой симптоматики, наличие и выраженность очаговых признаков поражения центральной нервной системы, динамику неврологического статуса пациентов. В оценке состояния сознания использовали шкалу комы Глазго. В соматическом статусе оценивали общее состояние пациента, состояние дыхательной, сердечно-сосудистой, наличие или отсутствие сопутствующей патологии. Обращали внимание на характер ЧМТ (открытая, закрытая,

комбинированная, сочетанная), наличие критериев исключения пациентов из исследования, противопоказаний к назначению аденозинтрифосфата.

Компьютерная томография (КТ)

Компьютерная томография головного мозга проводилась на томографе Toshiba Aquillion 64 при поступлении и в течение первых 72 часов с момента поступления («острейший период» травматического повреждения головного мозга). При наличии, по данным КТ головного мозга, показаний к хирургическому лечению, пациент исключался из исследования. В основном использовали стандартные укладки с получением срезов в интервале 3, 5, 10 мм. Плоскость томографирования при исследовании головы выбирали параллельно плоскости, проходящей орбитомеатальную линию. Среднее время от момента травмы до первичного КТ-исследования составляло $8,3 \pm 2,6$ часов. При каждом исследовании оценивались размер, плотность, локализация очага, смещение срединных структур, поджатие базальных цистерн, наличие и объем сопутствующих сателлитных оболочечных гематом, субарахноидального кровоизлияния и переломов свода черепа.

Нейроофтальмологическое исследование

Нейроофтальмологические исследования проводили всем пациентам с целью определения остроты зрения, границ поля зрения, исследования глазного дна, определения внутриглазного давления. Выявляли признаки первичной и вторичной атрофии, застойных явлений дисков зрительных нервов.

Лабораторные биохимические исследования крови и ликвора

Ликворологические исследования проводились при отсутствии противопоказаний к люмбальной пункции и включали определение физико-химических свойств спинномозговой жидкости: цвет, вязкости, белкового и клеточного состава, наличие или отсутствие крови, а также концентрацию электролитов и глюкозы. Клинико-лабораторное обследование пациентов

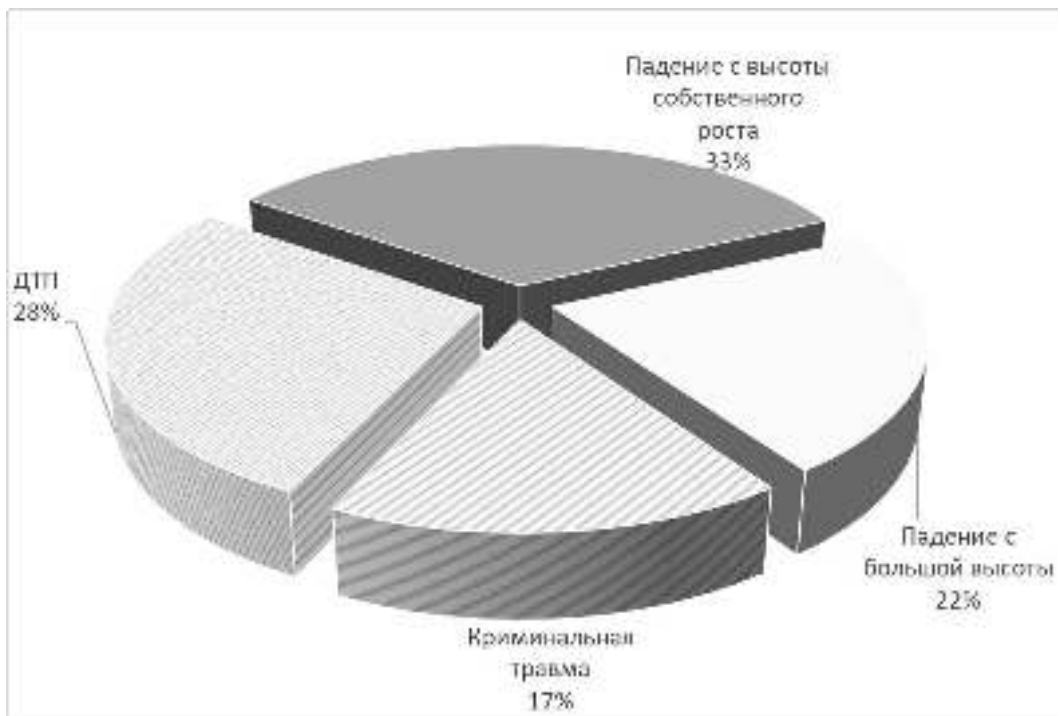
включало: общеклинический анализ крови и мочи, стандартное биохимическое исследование крови и КЩС.

Исследование концентрации биохимических маркеров повреждения головного мозга в плазме крови: NSE и S-100b

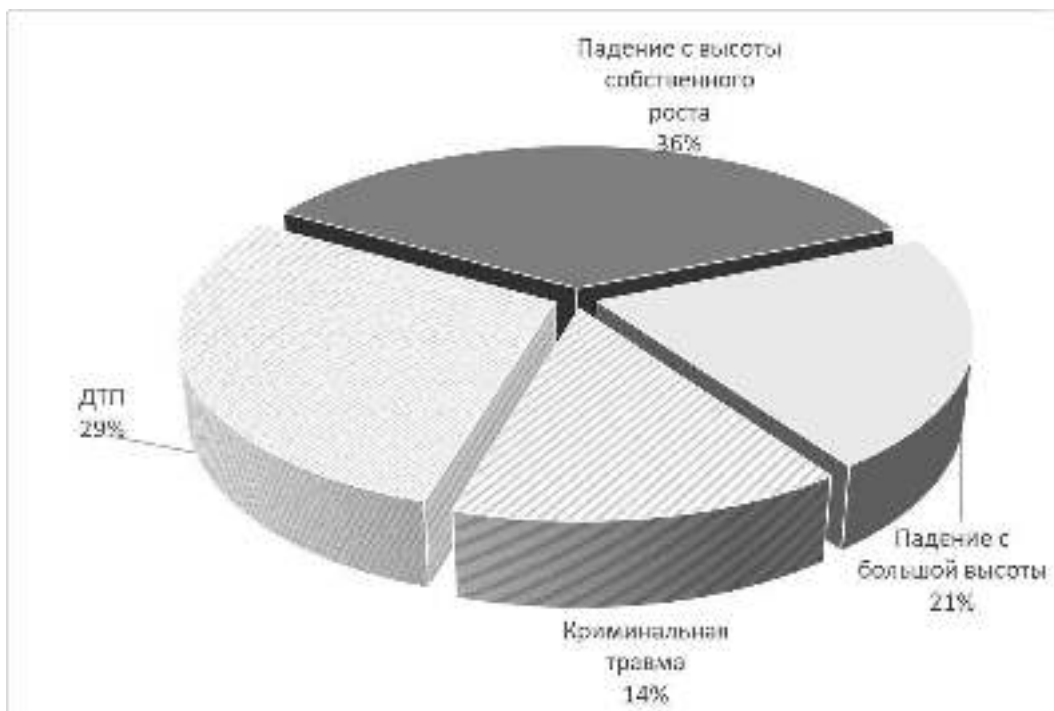
Для сравнительной оценки степени и прогноза повреждения нервной ткани в остром периоде ЧМТ у пациентов всех клинических групп, кроме основных клинических показателей, неврологического статуса и оценки уровня сознания, мы использовали известные биохимические маркеры повреждения - NSE и S-100. Кровь для исследования концентрации данных белков забирали у пациентов в 1-е, 3-и и 5-е сутки стационарного лечения. Содержание NSE и S-100b определяли на анализаторе Elecsys 1010 (Швейцария). Концентрацию нейроспецифической енолазы (NSE) в плазме крови выражали в мкг/мл, концентрацию белка S100 β - в нг/мл.

2.3. Общие клинические результаты пролонгированного внутривенного введения АТФ в остром периоде ЧМТ

При поступлении в стационар у всех больных констатирован ушиб головного мозга тяжелой и средней степени тяжести. Открытая черепно-мозговая травма была диагностирована у 8 (44%) пациентов контрольной и 6 (43%) пациентов основной клинических групп. Закрытая черепно-мозговая травма соответственно у 10 (56%) и 8 (57%) пациентов контрольной и основной клинических групп.



а



б

Рисунок 3.1 - Распределение пациентов контрольной (а) и основной (б) клинических групп по причине черепно-мозговой травмы. Различия между группами статистически не значимы.

Как видно из рис. 3.1, основные причины ЧМТ у пациентов клинических групп были ДТП и падение с высоты собственного роста. Оценка тяжести

состояния больного в остром периоде черепно-мозговой травмы складывалась при учете трех слагаемых: уровня сознания, состояния жизненно важных функций, выраженности очаговых неврологических симптомов. Распределение пациентов контрольной и основной клинических групп по степени тяжести нарушения сознания по ШКГ представлено на рис. 3.2.

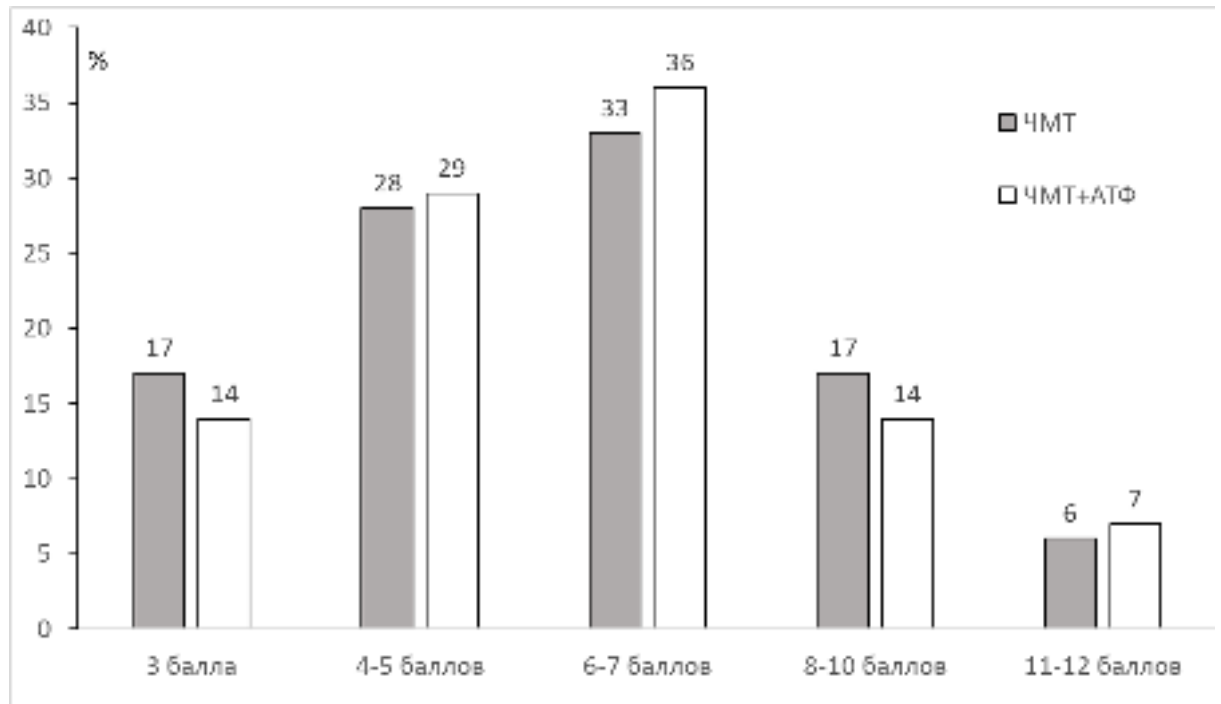


Рисунок 3.2 - Распределение пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп по степени нарушения сознания согласно ШКГ на момент поступления. Различия между группами статистически не значимы.

Различия между группами по данному параметру были статистически не значимы. Как видно из диаграммы, в большинстве случаев пациенты поступали в состоянии глубокой или умеренной комы. Среднее значение ШКГ у пациентов контрольной и основной клинических групп составляло соответственно $6,0 \pm 2,6$ и $6,1 \pm 2,5$ баллов ($P > 0,1$). При оценке уровня сознания, по Шкале комы Глазго от 3 до 5 баллов имели соответственно 8 (44%) и 6 (43%) пациентов контрольной и основной клинических групп; от 6 до 10 баллов - 9 (50%) и 7(50%) пациентов, и более 10 баллов - 4(22%) и 3 (21%) пациентов соответствующих клинических

групп. Отклонение частоты сердечных сокращений (ЧСС) от пределов физиологической нормы было отмечено у 15 (83%) и 11 (79%) больных контрольной и основной групп.

Изменения выражались в виде тахикардии до 100 - 140 ударов в мин или в виде умеренной брадикардии. Артериальное давление было повышенным свыше 160/100 мм рт.ст. соответственно у 7 (39%) и 5 (36%) или пониженным ниже 100/60 мм рт. ст. у 5 (28%) и 4 (29%) пострадавших. Повышение температуры тела до 38,0 - 39,0 градусов было зафиксировано у 4 (22%) и 3 (21%) пациентов контрольной и основной клинических групп. Нарушение дыхания в виде тахипноэ выявлены практически у всех больных. Недостаточность дыхания, требующая перевода больного на искусственную вентиляцию легких, имела место у 14 (78%) и 11 (79%) пациентов контрольной и основной клинических групп.

При неврологическом осмотре учитывали общемозговые симптомы, функцию черепных нервов, состояние двигательной системы. При оценке клинических проявлений патологического процесса обращали внимание на степень общемозговой симптоматики, наличие и выраженность очаговых признаков поражения центральной нервной системы, динамику неврологического статуса пациентов. Очаговые симптомы раздражения или выпадения, проявляющиеся грубо выраженным моно- или гемипарезом, повторяющимися клонико-тоническими судорогами в конечностях, отклонением глазных яблок, были выражены у 5 (29%) и 4 (28%) пациентов контрольной и основной клинических групп. В связи с общей тяжестью состояния очаговые симптомы не обнаруживались у 7 (39%) и 5 (36%) пациентов контрольной и основной клинических групп, у них преобладали грубые общемозговые и стволовые симптомы. В неврологическом статусе у всех обследованных пациентов выявлялись менингеальные и стволовые симптомы различной степени выраженности. У 3 (17%) и 2 (14%) пациентов контрольной и основной клинических групп стволовые симптомы имели характер выраженных нарушений. Они проявлялись в виде выраженной анизокории, снижения реакции зрачков на свет с одной или обеих сторон, снижения или отсутствия корнеальных

рефлексов, тонического множественного нистагма, двухсторонних патологических стопных рефлексов.

По данным КТ диагностики во всех случаях наблюдались очаги ушиба головного мозга. Распределение пациентов по суммарному объему очагов ушиба, по данным КТ диагностики представлено на рис. 3.5. В большинстве случаев объем очага не превышал 30 см³. Как правило, у пациентов отмечались очаги 1-2 типов. По распространенности, у 21 (70%) пациента контрольной группы и у 16 (64%) пациентов основной клинической группы отмечалось повреждение преимущественно одной доли головного мозга (рис. 3.6).

В большинстве случаев локализация ушибов наблюдалась в лобных долях (44-43%), реже в височных долях (16-17%) (рис. 3.3).

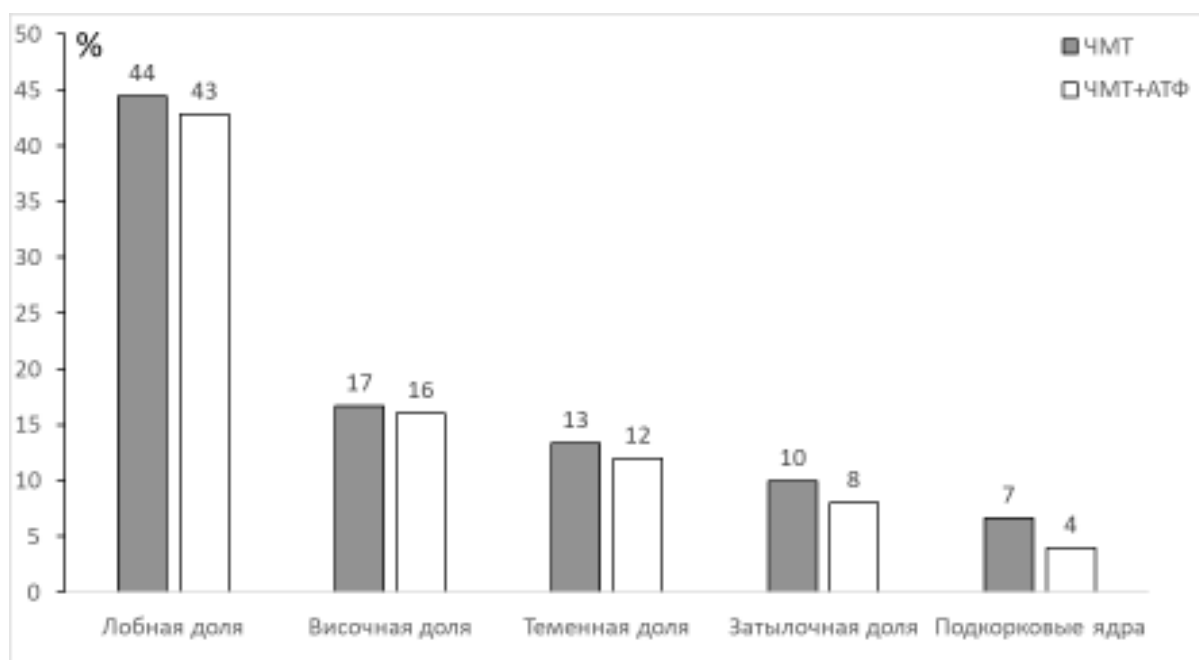


Рисунок 3.3 - Локализация очагов ушибов у пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп. Различия между группами статистически не значимы.

Повреждение двух и более смежных областей головного мозга выявлялось соответственно у 8 (27%) и 6 (24%) пациентов контрольной и основной групп. Дополнительно у 17% пациентов контрольной группы и 14% пациентов основной

клинической группы было обнаружено внутрижелудочковое кровоизлияние. Субдуральные гематомы объемом до 30 мл, не требовавшие хирургического вмешательства, наблюдались соответственно у 22% и 21% пациентов контрольной и основной клинических групп. Эпидуральные пластинчатые гематомы небольшого объема были выявлены соответственно в 6% и 7% случаев. Диффузное аксональное повреждение головного мозга отмечалось у 3 (17%) и 2 (14%) пациентов контрольной и основной клинических групп (рис. 3.4).

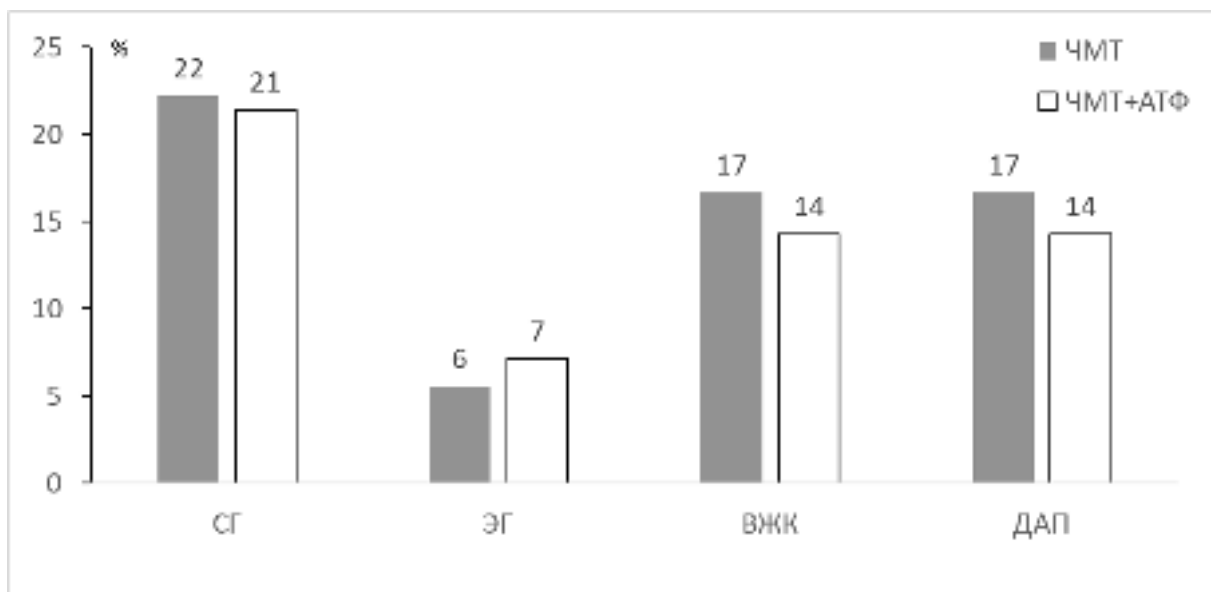


Рисунок 3.4 - Частота выявления различных по характеру повреждений головного мозга у пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп: СГ – субдуральная гематома; ЭГ – эпидуральная гематома; ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние; ДАП - диффузное аксональное повреждение головного мозга.

Различия между группами статистически не значимы.

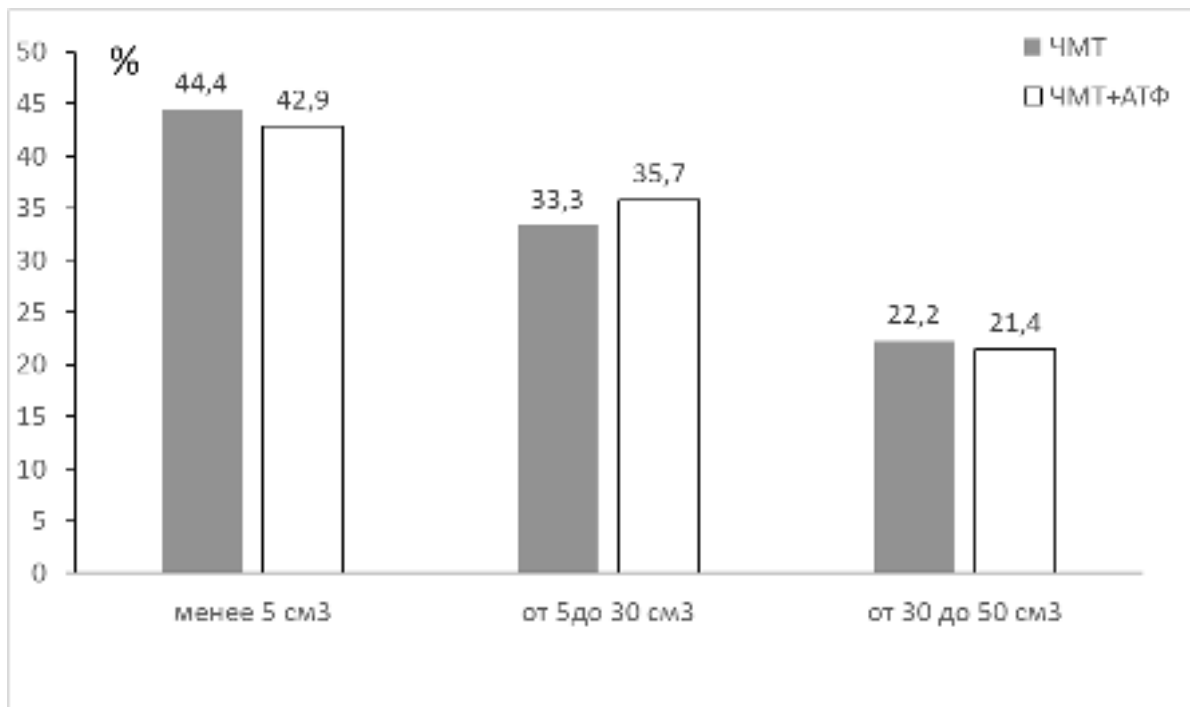


Рисунок 3.5 - Распределение пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп по объему очага ушиба. Различия между группами статистически не значимы.

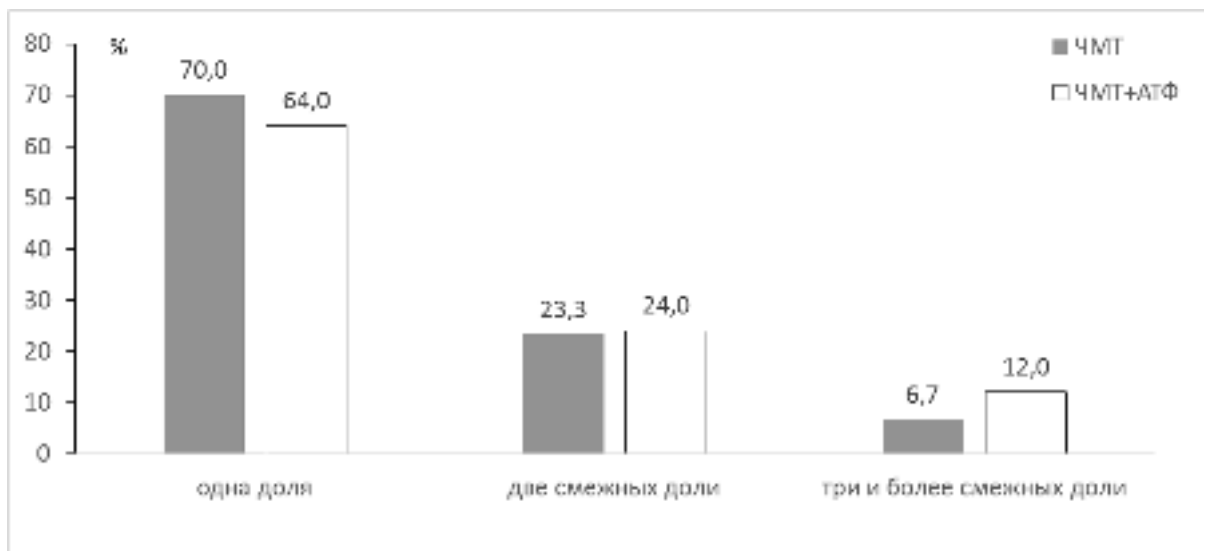


Рисунок 3.6. - Распределение пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп по локализации очагов ушиба. Различия между группами статистически не значимы.

2.4. Методы статистической обработки результатов

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ MS Excel 2003 и Matlab 7.14. Совокупные частоты возникновения и показатели выживания оценивались с помощью методов Каплана-Мейера. Категорийные данные были представлены частотами и процентами. Порядковые категорийные данные после ранжирования обрабатывались с использованием методов статистического анализа количественных данных. Для количественных и альтернативных признаков рассчитывали среднее и стандартную ошибку средней. Для оценки статистической значимости полученных результатов использовались параметрический критерий t — Стьюдента и непараметрический критерий U — Уилкоксона-Манна-Уитни. Результаты представлены в виде $M \pm SEM$, где M — среднее арифметическое, SEM — стандартная ошибка средней. Связь между электрофизиологическими параметрами оценивалась с использованием коэффициента корреляции Спирмена. Результаты математического и статистического анализа приведены в виде таблиц и рисунков. Различия считали значимыми при $P < 0,05$.

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Концентрация нейроспецифических белков NSEиS100β в плазме крови у крыс в динамике при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга и на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата

Как видно из рисунка 4.1, в результате проведенного исследования у всех крыс ложнооперированной серии в течение первых 5 суток не отмечалось статистически значимых изменений концентрации нейроспецифических белков NSE и S100β в плазме крови. При моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга у всех экспериментальных животных контрольной группы в первые сутки отмечалось значительное возрастание уровня нейроспецифической енолазы до $115,2 \pm 34,3\%$ от исходного уровня ($P < 0,01$). На 3 и 5 суток наблюдалась тенденция к дальнейшему увеличению концентрации этого фермента в среднем до $158,14 \pm 42,1\%$ и $129,64 \pm 33,6\%$ от исходного уровня ($P < 0,01$). Изменения концентрации белка S100 в плазме крови были более значимы (рис. 3.2). Концентрация этого белка в 1, 3 и 5 суток была выше исходного уровня соответственно на $168,6 \pm 37,5\%$, $189,4 \pm 43,3\%$ и $197,3 \pm 38,4\%$ от исходного уровня ($P < 0,01$).

При профилактическом в/б введении АТФ (50 мг/кг) отмечалась значительно меньшая степень увеличения концентрации нейроспецифических белков плазмы крови (таблица 2.1). В 1, 3 и 5 суток после моделирования повреждения уровень NSE был выше исходного значения соответственно на $72,2 \pm 32,4\%$ ($P < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем), $94,1 \pm 34,2\%$ и $68,69 \pm 25,8\%$ ($P < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой). При этом, на 3 и 5 суток после повреждения уровень этого

фермента в плазме крови был значимо меньше, чем в контрольной группе ($P < 0,05$).

Таблица 2.1 - Концентрация нейроспецифических белков NSE(мкг/л) и S100 (нг/л) в плазме крови на 1 и 3 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга у крыс

	1 группа (ложно-оперированные)	2 группа (контроль)	3 группа (АТФ)
NSE(μg/l)			
до повреждения	5,88±1,06	6,67±1,14	6,34±1,22
1 сутки	6,87±0,93	14,35±2,29 *	10,92±2,05 **
3 сутки	5,65±1,06	17,21±2,80 *	12,30±2,16** #
5 сутки	5,95±0,98	15,31±2,24 *	10,69±1,64** #
S100 (ng/l)			
до повреждения	63,28±3,87	60,19±4,64	61,84±3,71
1 сутки	64,39±4,65	221,82±22,60*	165,09±19,73* #
3 сутки	67,49±3,98	234,37±26,06*	155,13±25,37* #
5 сутки	63,56±4,93	239,13±23,13*	142,33±26,36* #

Примечание - * - $P < 0,01$ ** - $P < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем (до повреждения) и 1 группой (ложнооперированная серия); # - $P < 0,05$ в сравнении со 2 группой (контрольная серия)

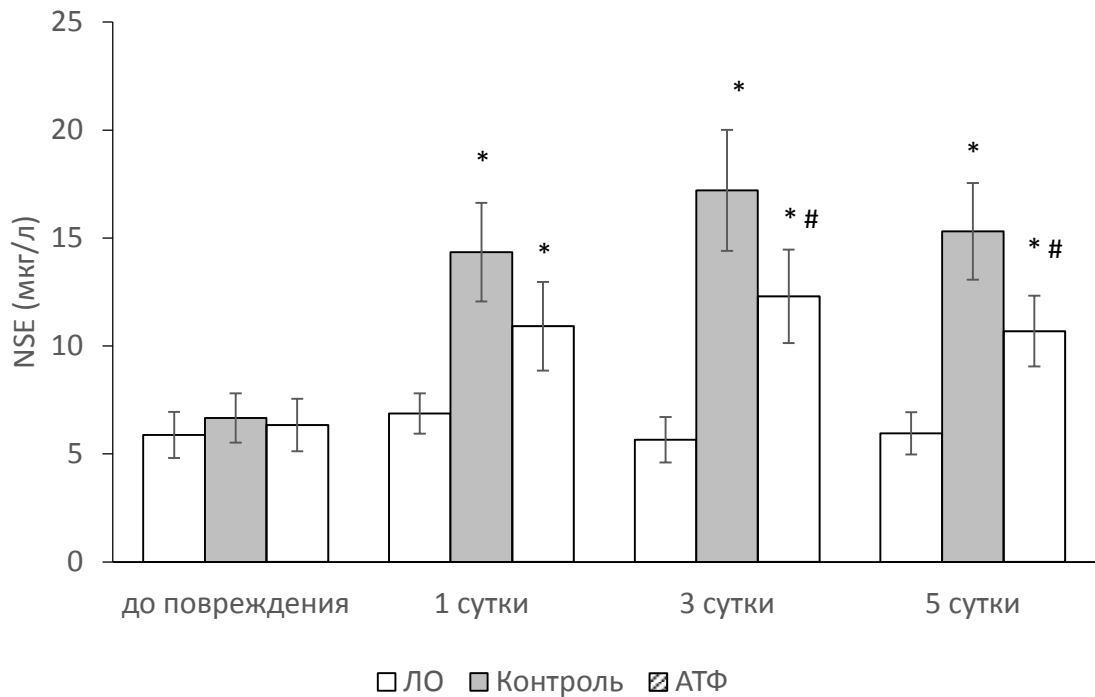


Рисунок 4.1 - Концентрация нейроспецифической енолазы (NSE, мкг/л) в плазме крови при моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга у крыс: «ЛО» – 1 группа (ложнооперированная серия); «Контроль» – 2 группа (контрольная -повреждение головного мозга); «АТФ» – 3 группа (основная, повреждение головного мозга на фоне в/б введения АТФ 50 мг/кг).* - $P < 0,01$ ** - $P < 0,05$ в сравнении с исходным уровнем (до повреждения) и 1 группой (ложнооперированная серия); # - $P < 0,05$ в сравнении со 2 группой (контрольная серия)

Концентрация белка S100 на 1, 3 и 5 сутки после моделирования повреждения была также ниже, чем в контрольной группе и составляла соответственно $166,96 \pm 31,9\%$ ($P < 0,01$ в сравнении с исходным уровнем, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой), $150,9 \pm 41,1\%$ и $130,2 \pm 42,6\%$ ($P < 0,01$ в сравнении с исходным уровнем, $P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой) от исходного уровня. Как видно из рис. 4.2, в данной группе, в отличие от контрольной серии, на 3 и 5 сутки отмечался тренд к снижению концентрации S100.

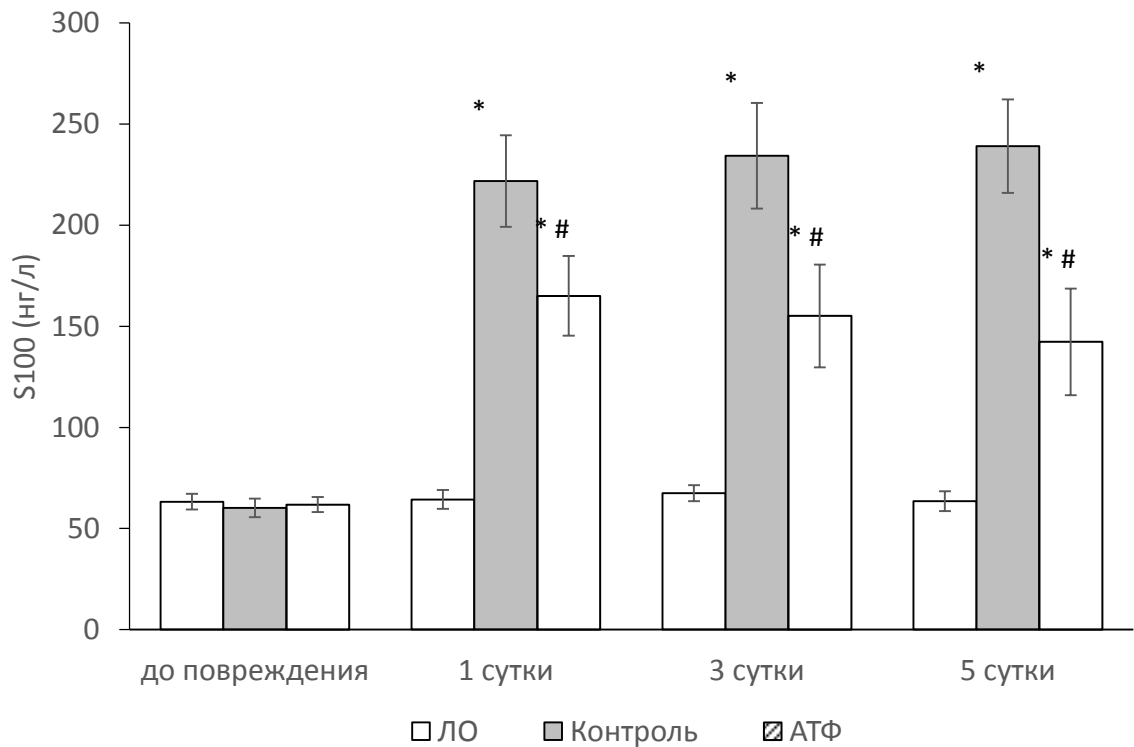


Рисунок 4.2 - Концентрация белка S100 (нг/л) в плазме крови при моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга у крыс: «ЛО» – 1 группа (ложнооперированная серия); «Контроль» – 2 группа (контрольная -повреждение головного мозга); «АТФ» – 3 группа (основная, повреждение головного мозга на фоне в/б введения АТФ 50 мг/кг). * - $P < 0,01$ в сравнении с исходным уровнем (до повреждения) и 1 группой (ложнооперированная серия); # - $P < 0,05$ в сравнении со 2 группой (контрольная серия)

Таким образом, профилактическое введение АТФ сопровождается менее значительным увеличением концентрации нейроспецифических белков плазмы крови, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга и ГЭБ при моделировании локального компрессионного повреждения. Результаты данного экспериментального раздела диссертации подтверждают возможность использования нейроспецифических белков плазмы крови NSE и S100 для оценки степени и прогноза повреждения в эксперименте и клинической практике.

3.2. Гистологические нарушения при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата

При гистологическом исследовании фронтальных срезов головного мозга у крыс ложнооперированной серии грубых патологических изменений нервной ткани выявлено не было (рис. 4.3).

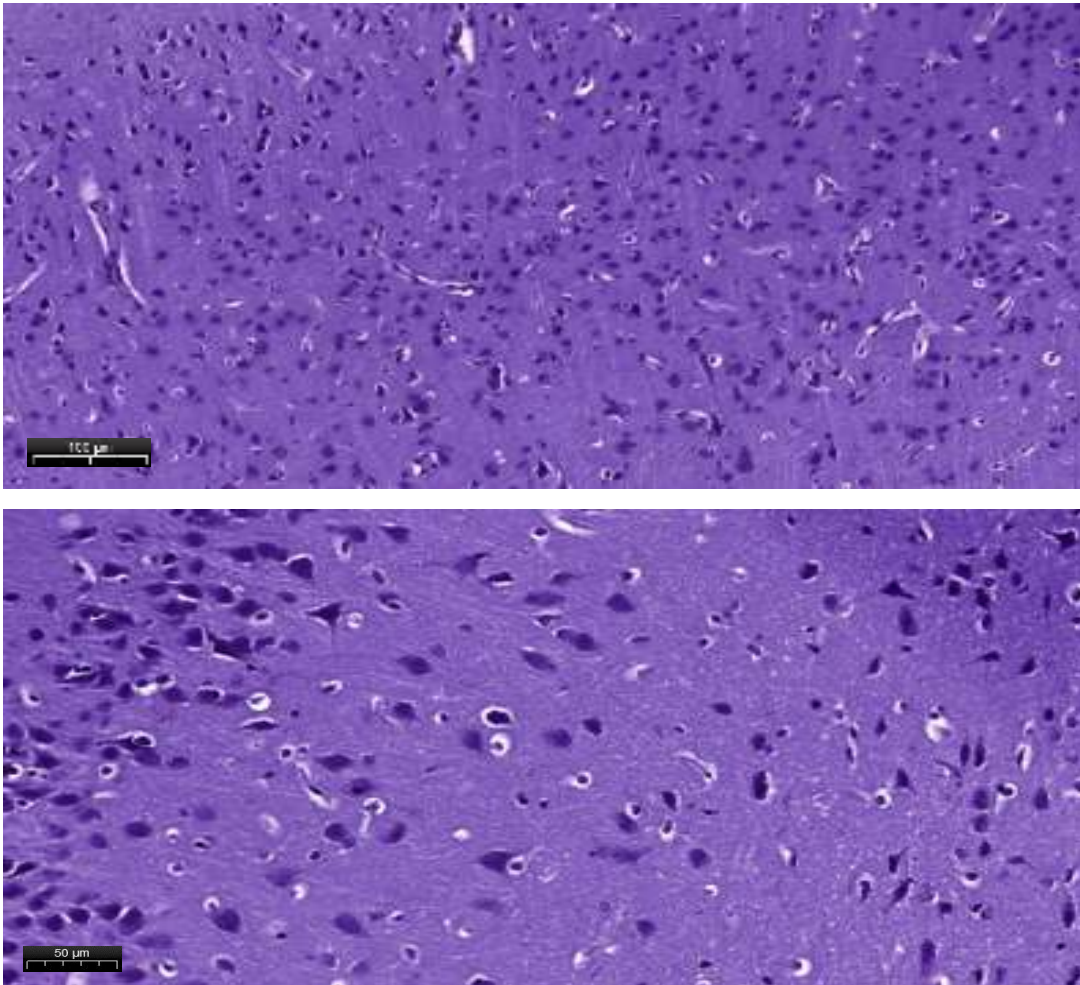


Рисунок 4.3. - Мозг крысы из ложнооперированной серии (трепанация черепа без моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга).

Правое полушарие головного мозга, теменная кора. Окраска гематоксилин-эозином. Масштаб указан на микрофотографии.

У всех крыс контрольной и основной экспериментальных групп были обнаружены локальные ишемические изменения в области компрессии. Эти

изменения варьировали от гибели единичных нейронов до формирования крупноочаговых инфарктов (Рис. 4.4).

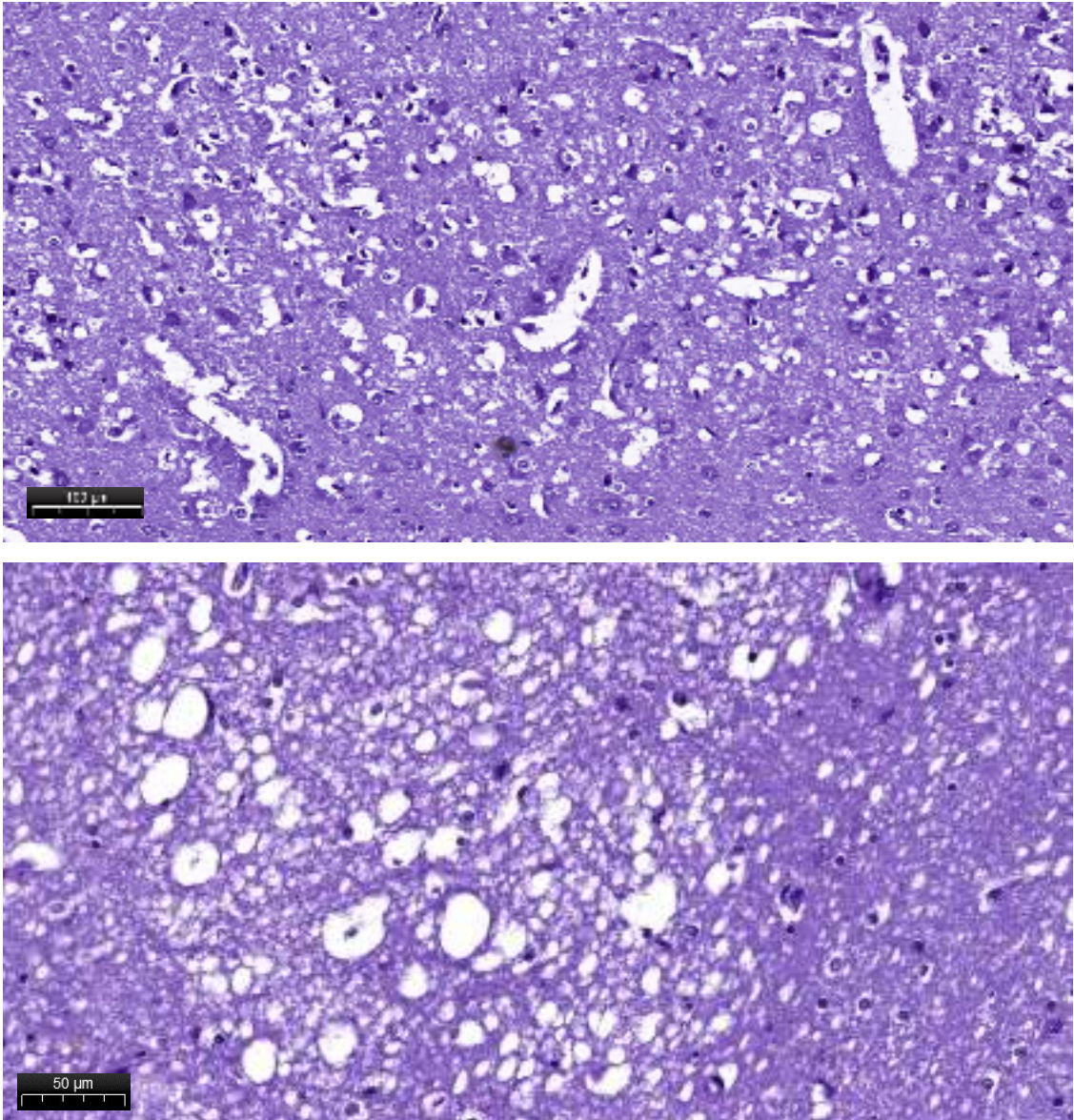


Рисунок 4.4 - Мозг крысы на пятые сутки после моделирования локального компрессионно-ишемического повреждения головного мозга. Контрольная группа. Правое полушарие головного мозга, теменная кора (зона повреждения). Окраска гематоксилин-эозином. Масштаб указан на микрофотографии.

Нейроны подвергались коагуляционному некрозу с потерей отростков, гомогенизацией и хроматолизом цитоплазмы, пикнозом ядер, растворением глыбок базофильного вещества Ниссля и превращением в клетки-тени.

Отмечалась распространенная нейронофагия, периваскулярный и перицеллюлярный отек, кортикальные и субкортикальные кровоизлияния. В некоторых случаях выявлялась выраженная глиомезодермальная реакция. В случаях формирования крупноочаговых инфарктов в зону некроза было вовлечено и белое вещество. Наиболее выраженные гистопатологические нарушения обнаруживались у крыс контрольной групп (рис. 3.4). Средний гистопатологический балл в данной группе составлял $1.9 \pm 0,29$. У крыс основной экспериментальной группы при моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга на фоне введения раствора АТФ гистопатологические изменения были существенно меньше, чем в контроле (рис. 4.5). Средний гистопатологический балл составлял $1,2 \pm 0,31$ ($P < 0.05$).

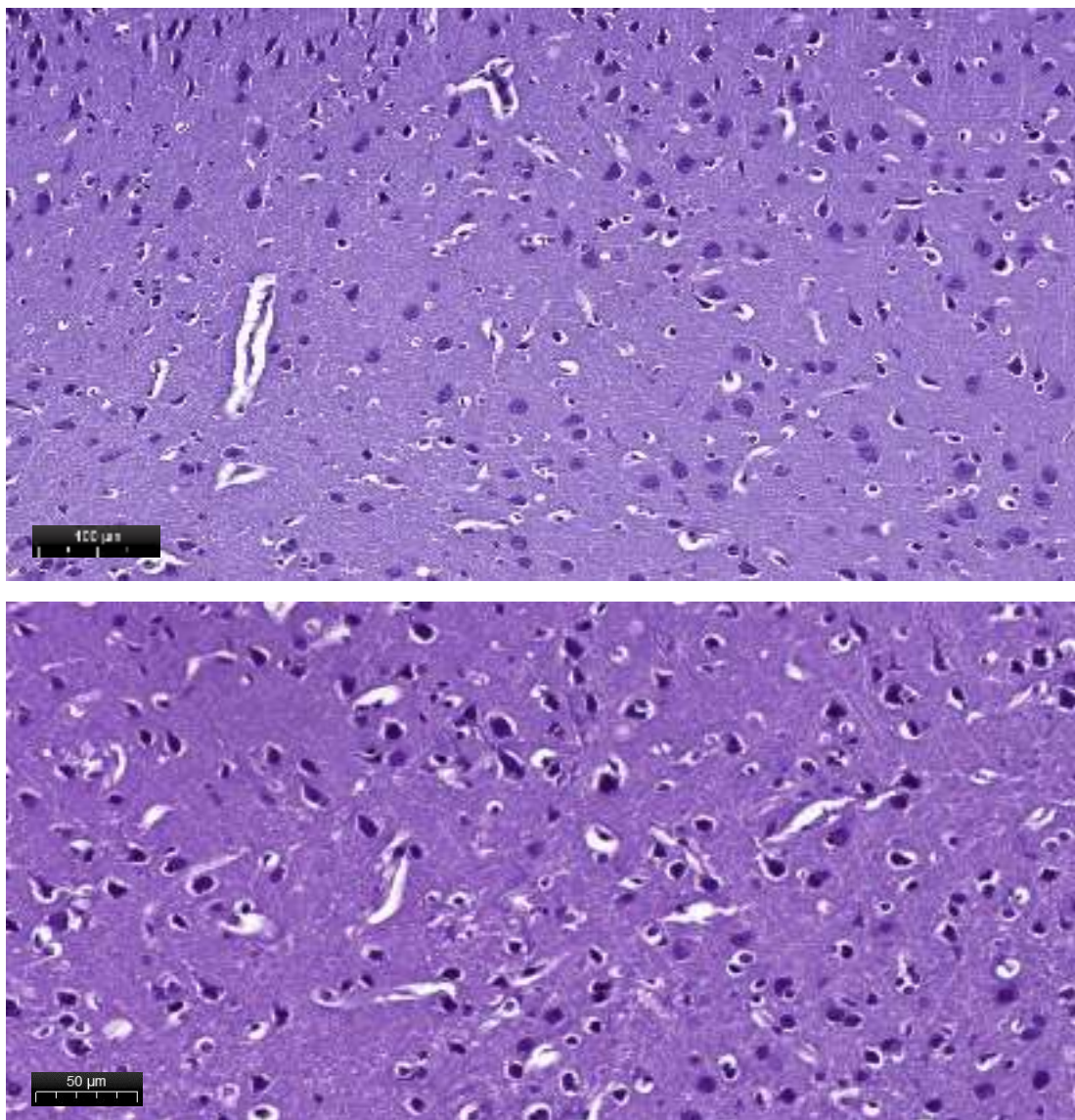


Рисунок 4.5 - Мозг крысы на пятые сутки после моделирования локального компрессионно-ишемического повреждения коры правого полушария на фоне предварительного внутрибрюшинного введения раствора АТФ (50 мг/кг). Правое полушарие головного мозга, теменная кора (зона повреждения). Окраска гематоксилин-эозином. Масштаб указан на микрофотографии.

Таким образом, локальная компрессия коры головного мозга у крыс сопровождается выраженными ишемическими изменениями в очаге повреждения, профилактическое внутрибрюшинное введение раствора АТФ (50 мг/кг) сопровождается значительным уменьшением выраженности морфологических нарушений при локальном компрессионно-ишемическом повреждении, что подтверждает цитопротекторные свойства данного препарата и его метаболитов.

3.3. Изменения уровня постоянного потенциала головного мозга при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга и на фоне профилактического введения АТФ

Динамика изменения УПП у ложнооперированных животных в течение 5 суток характеризовалась колебаниями УПП до 1,5 мВ синхронно во всех отведениях. Подобные изменения УПП были статистически не значимы и, скорее всего, отражали суточные ритмические колебания биоэлектрической активности мозга (рис. 4.6а). Динамика изменений УПП в первые 5 суток после повреждения в контрольной и основной экспериментальных группах представлена в таблице 2.2.

В контрольной серии в 1 сутки после моделирования компрессионного повреждения во всех отделах коры головного мозга отмечались статистически значимые электроотрицательные сдвиги УПП до 15-20 мВ (рис. 4.6б). Максимальная негативизация УПП регистрировалась в зоне компрессии (правая теменная кора). В 1 сутки степень снижения УПП в этом отведении составила $8,02 \pm 1,13$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой).

К 3-м суткам негативные сдвиги УПП были максимальными и составили $16,6 \pm 1,5$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой, $P < 0,01$ в сравнении аналогичными изменениями в 1-2 сутки после моделирования повреждения).

К 5-м сутками отмечалась незначительная тенденция к восстановлению УПП до $13,8 \pm 1,5$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой, $P < 0,01$ в сравнении аналогичными изменениями в 1-2 сутки после моделирования повреждения).

В правой лобной коре изменения УПП были менее выраженными и характеризовались снижением УПП на $6,47 \pm 0,9$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой) в 1 сутки после повреждения. В последующие дни изменения УПП в этом отведении

статистически значимо не отличались от изменений в 1 сутки. Наблюдалась тенденция к максимальному снижению УПП до $-10,8 \pm 1,9$ мВ на 3 сутки ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой, $P < 0,05$ в сравнении с аналогичными изменениями в зоне повреждения).

В левой теменной области в 1 сутки после повреждения изменения уровня постоянного потенциала характеризовались снижением на $7,69 \pm 1,3$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой).

К 5 суткам отмечалась тенденция к восстановлению УПП до $-5,9 \pm 0,97$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой, $P < 0,01$ в сравнении аналогичными изменениями в правой теменной и правой лобной областях).

В наиболее отдаленном от зоны повреждения отведении (левая лобная область) степень негативизации УПП была минимальной и составила на 1 сутки $4,45 \pm 1,13$ мВ ($P < 0,01$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой; $P < 0,01$ в сравнении с другими отделами коры головного мозга).

В последующие сутки в данном отделе коры головного мозга сдвиги УПП статистически не отличались от исходного уровня и изменений в ложнооперированной серии.

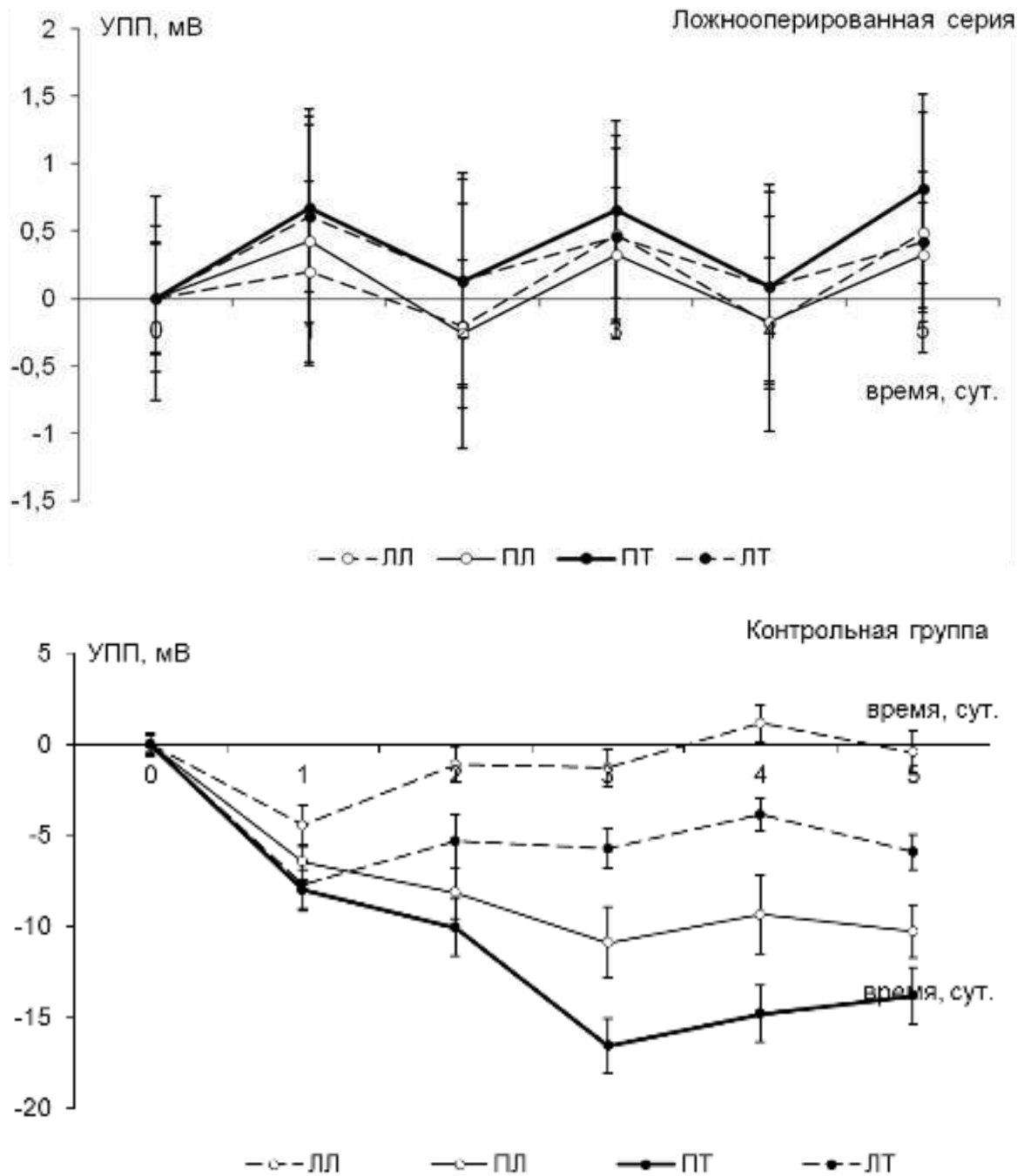
Установлена высокая положительная корреляция между степенью электронегативных сдвигов УПП на 3 и 5 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения и концентрацией нейроспецифических белков в плазме крови. Коэффициенты корреляции между сдвигами УПП в зоне повреждения и концентрацией NSE и белка S100 β на 5 сутки составляли соответственно 0,83 ($P < 0,05$) и 0,72 ($P < 0,05$). Корреляция изменений УПП на 5 сутки после моделирования повреждения и выраженностью локальных гистопатологических ишемических нарушений в зоне компрессии составляла 0,65 ($P < 0,05$).

При профилактическом в/б введении раствора АТФ (50 мг/кг) статистически значимое снижение УПП отмечалось только в зоне повреждения

(рис. 4.6в). Максимальная степень негативизации постоянного потенциала наблюдалась к 3 суткам после повреждения и составляла $5,9 \pm 1,4$ мВ ($P < 0,001$ в сравнении с исходным уровнем и ложнооперированной группой, $P < 0,01$ в сравнении аналогичными изменениями в контрольной группе и других отведениях). На 4-5 сутки изменения УПП не отличались от предыдущего уровня (3 сутки).

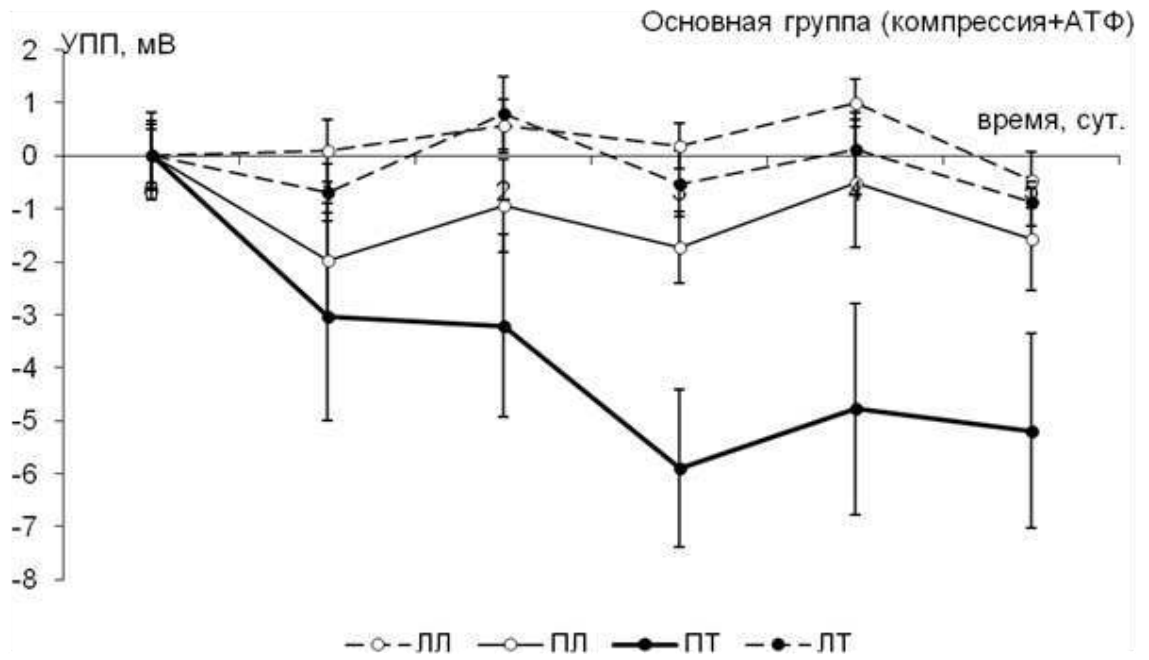
Так же, как и в контрольной группе, при профилактическом применении АТФ отмечалась высокая положительная корреляция между степенью электронегативных сдвигов УПП на 3 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения и концентрацией нейроспецифических белков в плазме крови. Коэффициенты корреляции между сдвигами УПП в зоне повреждения и концентрацией NSE и белка S100 β составляли соответственно 0,74 ($P < 0,05$) и 0,67 ($P < 0,05$).

Таким образом, в очаге локального компрессионного повреждения отмечается развитие выраженных деполяризационных изменений, сопровождающихся повреждением ГЭБ и соответствующими гистопатологическими нарушениями. Максимальная степень нейродинамических процессов отмечается на 3-5 сутки после повреждения. Профилактическое введение АТФ сопровождается замедлением и значительным снижением амплитуды деполяризационных процессов в области повреждения в первые 5 суток. Также отмечается уменьшение площади распространения деполяризационных сдвигов, что свидетельствует об ограничении области компрессионного патологического очага. Высокая диагностическая значимость регистрации УПП, как показателя степени поляризации нервной ткани, предполагает перспективность использования данного метода исследования в эксперименте и клинической практике для диагностики повреждения нервной ткани и оценки потенциальных нейропротекторных свойств новых лекарственных препаратов.



б

Рисунок 4.6 - Изменения УПП (мВ) в первые 5 суток после моделирования локального компрессионного повреждения коры головного мозга: а – изменения УПП в ложнооперированной группе; б – изменения УПП в контрольной группе (повреждение головного мозга): ЛЛ – левая лобная кора, ПЛ – правая лобная кора, ПТ – правая теменная кора, ЛТ – левая теменная кора.



в

Рисунок 4.6 (продолжение) - Изменения УПП (мВ) в первые 5 суток после моделирования локального компрессионного повреждения коры головного мозга:

в – изменения УПП в основной группе (повреждение головного мозга:

ЛЛ – левая лобная кора, ПЛ – правая лобная кора, ПТ – правая теменная кора, ЛТ – левая теменная кора.

Таблица 2.2 - Изменения УПП в первые 5 суток после моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга

	левое лобное отведение	правое лобное отведение	правое теменное отведение (зона повреждения)	левое теменное отведение
ЛО	0,00±0,54	0,00±0,42	0,00±0,40	0,00±0,76
Контроль	0,00±0,45	0,00±0,52	0,00±0,49	0,00±0,61
АТФ	0,00±0,60	0,00±0,50	0,00±0,82	0,00±0,66
ЛО	0,20±0,67	0,43±0,92	0,67±0,62	0,61±0,79
Контроль	-4,45±1,13*	-6,48±0,96*	-8,03±1,13*	-7,69±1,36*
АТФ	0,09±0,59#	-1,99±1,08#	-3,03±1,97#	-0,70±0,54#
ЛО	-0,20±0,91	-0,26±0,55	0,13±0,76	0,13±0,80
Контроль	-1,12±0,99&	-8,17±1,41*	-10,08±1,57*	-5,31±1,48*
АТФ	0,56±0,50	-0,93±0,88#	-3,21±1,73*#	0,81±0,69#
ЛО	0,48±0,64	0,32±0,50	0,66±0,66	0,46±0,75
Контроль	-1,29±1,02&	-10,89±1,94* &	-16,56±1,50* &	-5,72±1,08*
АТФ	0,18±0,43	-1,73±0,67#	-5,90±1,49*#	-0,53±0,62#
ЛО	-0,19±0,80	-0,17±0,47	0,09±0,76	0,09±0,70
Контроль	1,15±1,03&	-9,35±2,15* &	-14,81±1,54* &	-3,86±0,91* &
АТФ	0,99±0,45	-0,52±1,20#	-4,78±2,00*#	0,12±0,69#
ЛО	0,49±0,89	0,32±0,39	0,81±0,70	0,42±0,52
Контроль	-0,43±1,21&	-10,28±1,46* &	-13,83±1,54* &	-5,92±0,97*
АТФ	-0,46±0,52	-1,57±0,96#	-5,19±1,84*#	-0,87±0,46#

Примечание - ЛО – ложнооперированная группа; К – контрольная группа; АТФ – основная группа (повреждение головного мозга на фоне профилактического в/б введения АТФ). * - $P < 0,01$ в сравнении со значением показателя в ложнооперированной группе; # - $P < 0,01$ в сравнении со значением показателя в контрольной группе; & - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в 1 сутки ЧМТ

Глава 4. КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТА У ПАЦИЕНТОВ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ

4.1. Анализ основных клинических исходов у пациентов с ЧМТ и на фоне пролонгированного внутривенного введения АТФ

Анализ основных клинических исходов у пациентов с ЧМТ показал, что пролонгированная инфузия раствора АТФ в остром периоде ЧМТ сопровождалась более быстрым регрессом патологической неврологической симптоматики и значительно меньшей летальностью пациентов основной клинической группы по сравнению с контрольной группой.

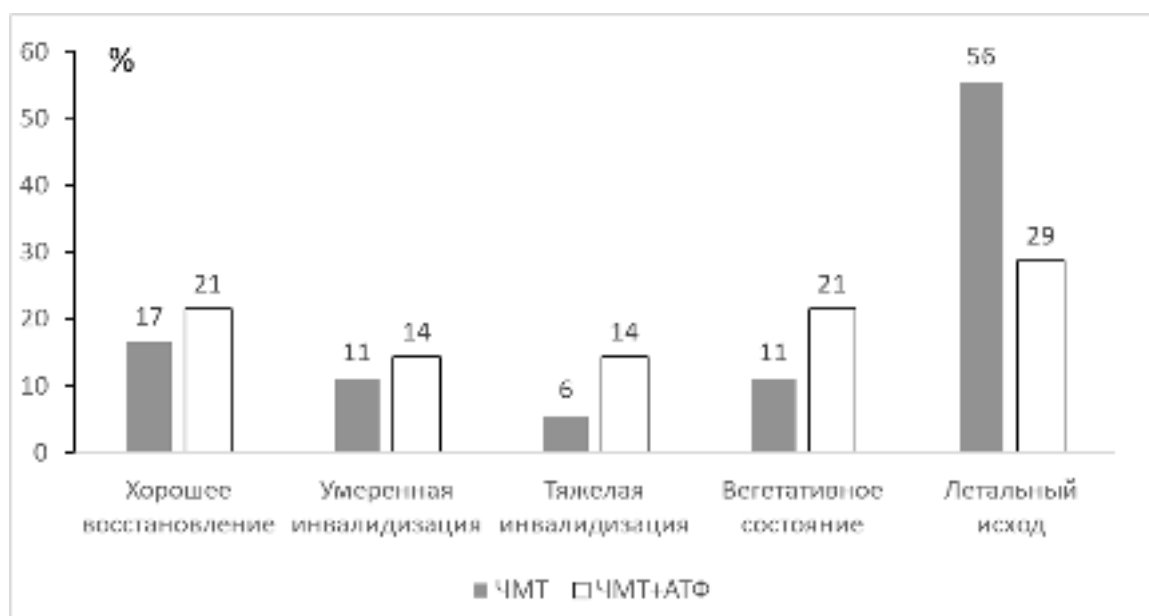


Рисунок 4.7 - Исходы ЧМТ у пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп. * - $P < 0,05$, # - $P < 0,1$ (тенденция) в сравнении с контрольной группой.

Как видно из рис. 4.7, хорошее неврологическое восстановление отмечалось у 21% основной клинической группы (с использованием терапии с АТФ) и 17%

пациентов контрольной группы. У пациентов с хорошим восстановлением отмечалось значительное уменьшение выраженности очаговой неврологической симптоматики, остаточные вегетативные симптомы. Умеренная и тяжелая инвалидизация отмечалась соответственно у 29% пациентов основной группы и 17% пациентов контрольной группы. У данных пациентов отмечалось сохранение очаговой неврологической и вегетативной симптоматики, в тяжелых случаях умеренный или выраженный когнитивный дефицит. Вегетативное состояние развивалось у 11% и 21% пациентов контрольной и основной клинических групп.

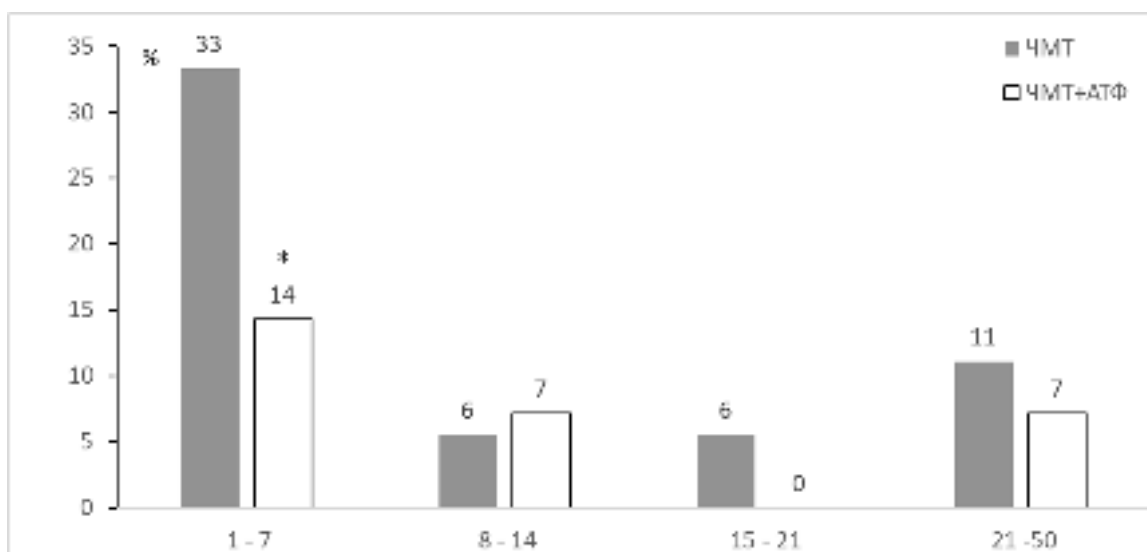
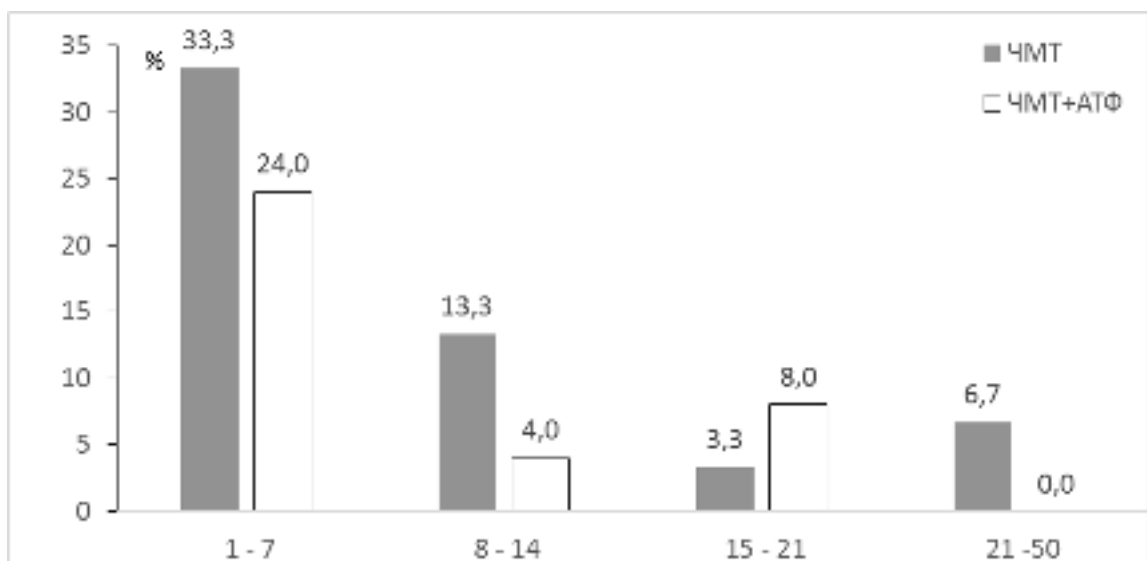


Рисунок 4.8 - Летальность пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп в зависимости от длительности нахождения в стационаре. * $P < 0,05$

Более высокая частота инвалидизации пациентов, у которых с целью нейропротекции использовался АТФ, связана с меньшей вероятностью летального исхода. При анализе исходов ЧМТ в рамках данного клинического исследования необходимо учитывать значительную тяжесть повреждения головного мозга у пациентов. В среднем летальность пациентов контрольной и основной клинических групп группы составляла соответственно 55,6% и 28,6% ($P < 0,05$). Максимальная летальность в обеих группах наблюдалась в первые 7 суток после ЧМТ (рис. 4.8). При этом летальность пациентов на фоне введения АТФ была примерно в 2 раза ниже ($P < 0,05$). В последующие сутки статистической разницы по данному критерию не отмечалось. Смертность пациентов в этот период объяснялась развитием полиорганной недостаточности, присоединением сопутствующей патологии (пневмонии, тромбоэмболические нарушения и др.).

Данная тенденция более наглядно прослеживается при анализе кривой выживания Каплан-Мейера (рис. 4.9). При этом обращает внимание как общее «замедление» кривой выживаемости, так и суммарное увеличение выживаемости пациентов основной клинической группы до 71,4 %.

Необходимо отметить высокую корреляцию между летальностью пациентов и показателями ШКГ при поступлении в контрольной группе - 0,67 ($P < 0,05$) и отсутствие значимой корреляции между этими показателями (коэффициент корреляции 0,22) в основной клинической группе на фоне лечения пролонгированной инфузией раствора АТФ.

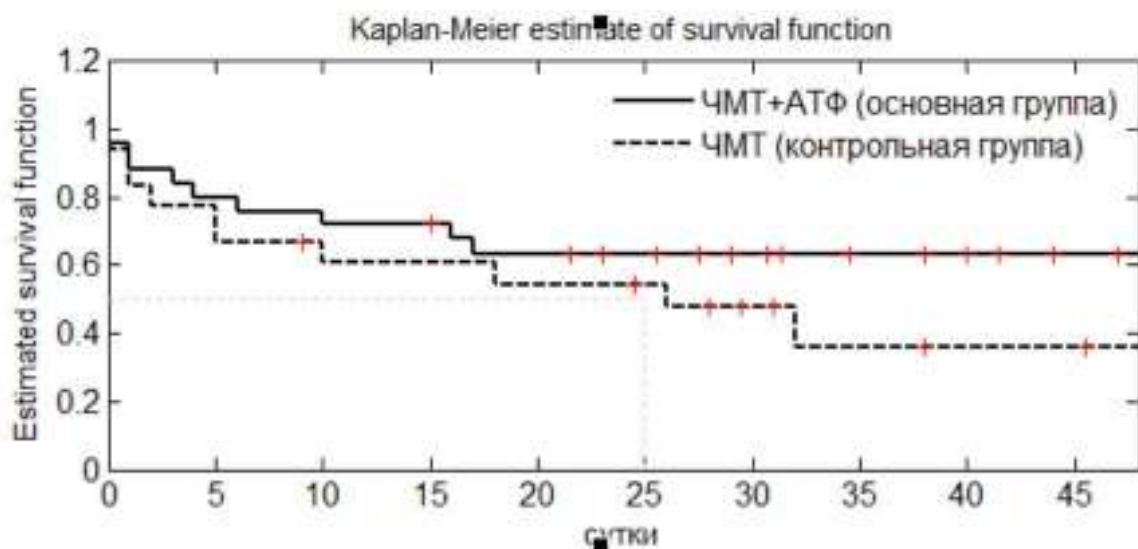


Рисунок 4.9 - Кривая Каплана-Мейера выживаемости пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп в первые 50 суток после ЧМТ.

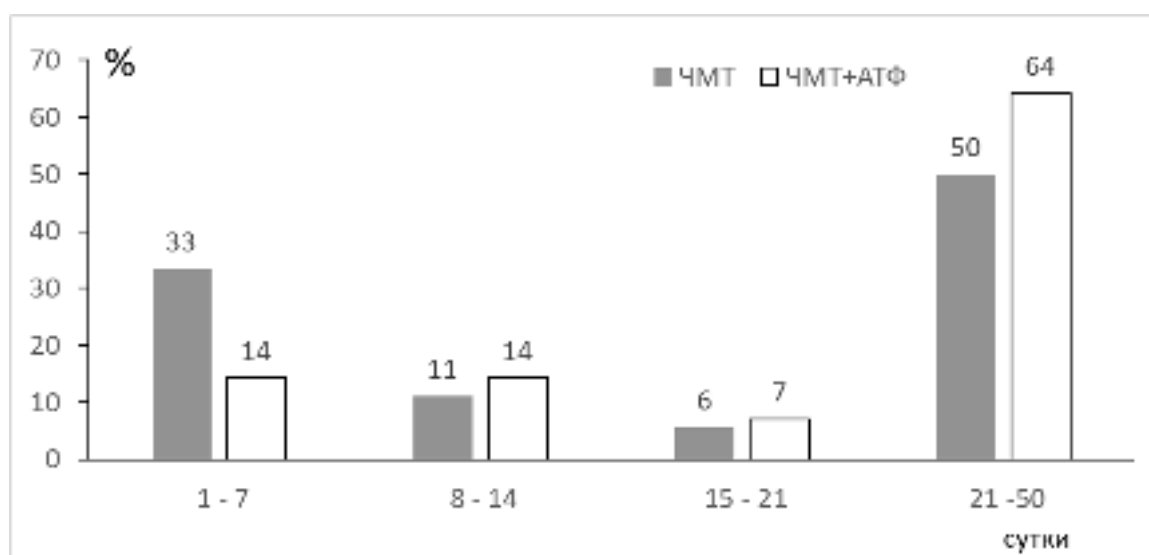


Рисунок 4.10 - Распределение пациентов контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп по длительности нахождения в стационаре.

Различия между группами статистически не значимы.

Средняя продолжительность нахождения пациентов в стационаре существенно не отличалась между группами (рис. 4.10). За счет большей смертности пациентов контрольной группы в первые 7 суток наблюдалась тенденция к более меньшей продолжительности стационарного лечения у

пациентов контрольной группы, которая составляла $19,1 \pm 15,2$ суток относительно $27,4 \pm 15,6$ суток у пациентов на фоне лечения АТФ ($P > 0,1$).

4.2. Динамика изменений концентраций нейроспецифических белков NSE и S100 β в сыворотке крови у пациентов в остром периоде ЧМТ и на фоне пролонгированного внутривенного введения аденозинтрифосфата

Результаты исследования содержания нейроспецифических белков NSE и S100 β в сыворотке плазмы крови представлены таблице 4.1.

Таблица 3.1 - Концентрация нейроспецифических белков NSE (мкг/л) и S100 (нг/л) в плазме крови пациентов группы сравнения, контрольной и основной клинических групп в 1,3 и 5 сутки после ЧМТ

	Группа сравнения (без ЧМТ)	Контрольная группа (ЧМТ)	Основная группа (ЧМТ+АТФ)
NSE($\mu\text{g/l}$)			
1 сутки	7,2 \pm 1,2	30,4 \pm 1,2 *	27,9 \pm 1,2 *
3 сутки		30,7 \pm 2,6 *	23,8 \pm 2,9 # *
5 сутки		25,8 \pm 2,4 * &	20,3 \pm 2,1* #&
S100 (ng/l)			
1 сутки	92,5 \pm 9,2	245,6 \pm 25,3*	248,2 \pm 19,9*
3 сутки		288,7 \pm 27,2*	248,4 \pm 16,6*
5 сутки		268,1 \pm 41,1*	224,8 \pm 15,4* #&

Примечание - * - $P < 0,01$ в сравнении со значением показателя в группе сравнения; # - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в контрольной группе; & - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в 1 сутки ЧМТ

Как видно из полученных данных, в основной и контрольной группах в посттравматическом периоде концентрация нейроспецифических белков в сыворотке крови претерпевала однотипные изменения.

В контрольной группе пациентов с ЧМТ максимальное значение концентрации белка NSE отмечалось на первые и третьи сутки повреждения с

последующим снижением к пятым суткам после травмы. Концентрация NSE (рис. 4.11) в первые трое суток превышала показатели контрольной группы в 3,6-4,2 раза ($P<0,01$) и составляла соответственно $30,4\pm 1,2$ мкг/л и $30,7\pm 2,6$ мкг/л (в норме $7,2\pm 1,2$ мкг/л). На 5 сутки она незначительно снизилась до уровня $25,8\pm 2,4$ мкг/л, однако превышала контрольные значения в 3,6 раза ($P<0,01$).

Концентрация белка S100 β в плазме крови в первые сутки в контрольной группе превышала референтное значение в 2,6 раз ($P<0,01$ в сравнении со здоровыми (группа сравнения) и составляла $245,6\pm 25,3$ нг/л (в норме (группа сравнения) – $92,5\pm 9,2$ нг/л), в дальнейшем повышалась до максимума на 3 сутки, когда значение концентрации было выше, чем в группе сравнения в 3,2 раза и составляла и $288,7\pm 27,2$ нг/л. К 5 суткам концентрация S100 β незначительно снизилась до уровня $268,1\pm 41,1$ нг/л, оставаясь выше референтного значения в 2,9 раза ($P<0,01$ в сравнении с группой сравнения).

В основной клинической группе на фоне пролонгированной внутривенной инфузии раствора АТФ отмечалась более позитивная динамика изменений концентрации нейроспецифических белков. Как видно из рис. 4.11, максимальная концентрация белка NSE в основной клинической группе наблюдалась в первые сутки после ЧМТ и составляла $27,9\pm 1,2$ мкг/л и не отличалась от аналогичного значения в контрольной группе ($P<0,01$ в сравнении с группой сравнения). На 3 и 5 сутки отмечалась статистически значимая тенденция к снижению концентрации этого белка. На 3 и 5 сутки концентрация NSE в плазме крови составляла соответственно $23,8\pm 2,9$ мкг/л ($P<0,05$ в сравнении с контрольной группой) и $20,3\pm 2,1$ мкг/л ($P<0,05$ в сравнении с контрольной группой, $P<0,05$ в сравнении с первыми сутками после травмы). Концентрация белка S100 β в плазме крови пациентов основной клинической группы также характеризовалась максимальным значением на первые сутки после ЧМТ с последующей тенденцией к снижению (рис. 4.12).

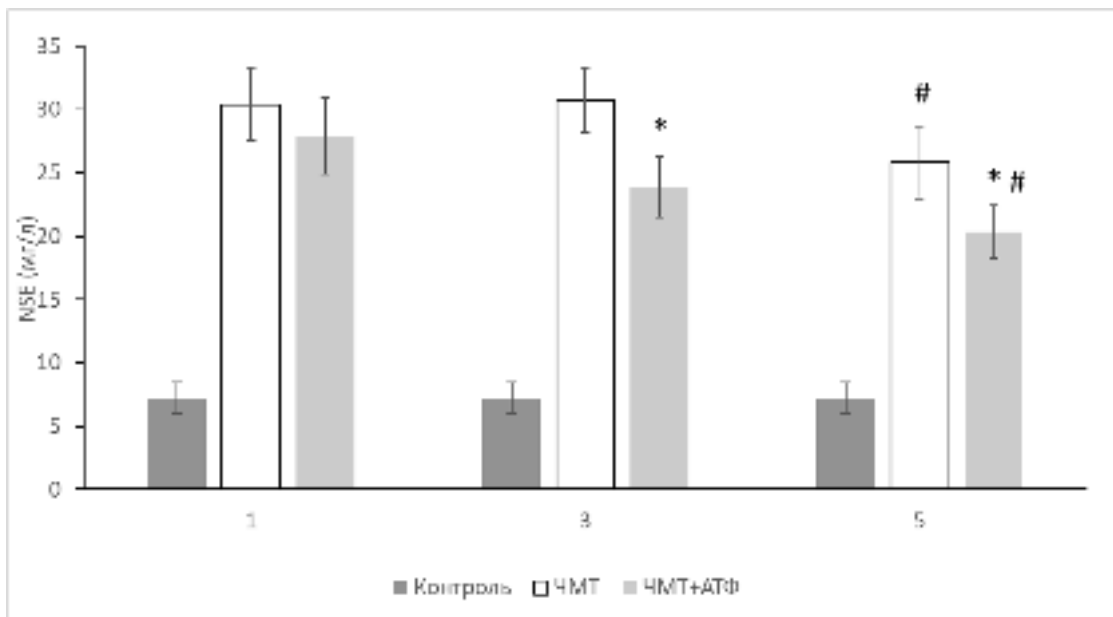


Рисунок 4.11 - Концентрация белка NSE (мкг/л) в плазме крови пациентов группы сравнения (норма), контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических групп в 1,3 и 5 сутки после ЧМТ. * - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в контрольной группе; # - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в 1 сутки ЧМТ. Все изменения с группой сравнения статистически значимы ($P < 0,01$).

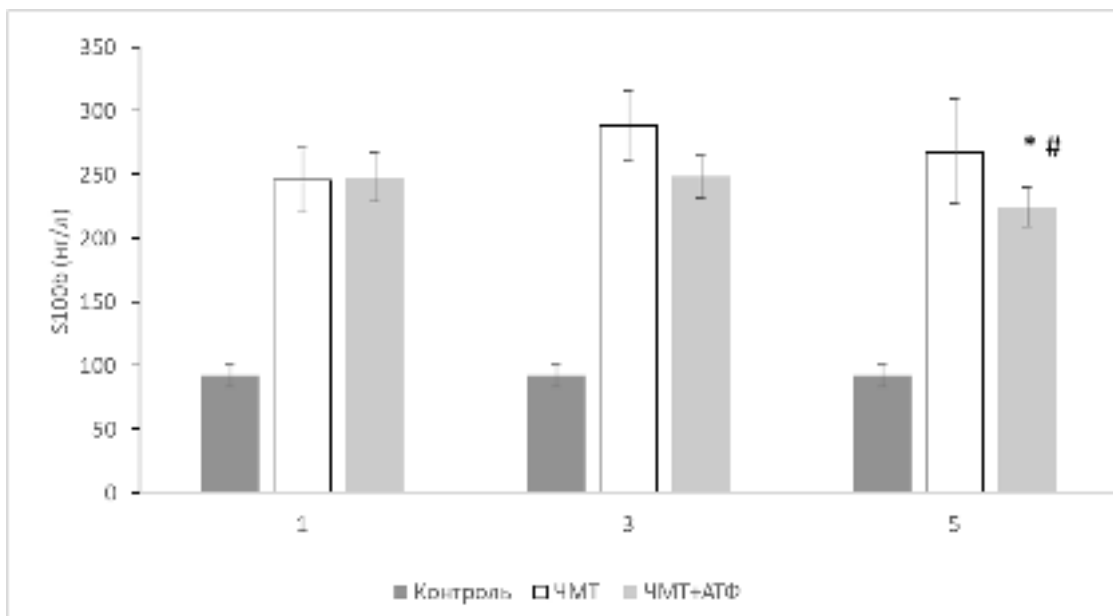


Рисунок 4.12 - Концентрация белка S100β (нг/л) в плазме крови пациентов группы сравнения (норма), контрольной (ЧМТ) и основной (ЧМТ+АТФ) клинических

групп в 1,3 и 5 сутки после ЧМТ. * - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в контрольной группе; # - $P < 0,05$ в сравнении со значением показателя в 1 сутки ЧМТ. Все изменения с группой сравнения статистически значимы ($P < 0,01$).

Уровень S100 β в первые сутки после ЧМТ в группе пациентов на фоне лечения инфузией АТФ составлял $248,2 \pm 19,9$ нг/л и также не отличался от уровня контрольной группы, превышая референтное значение в 2,7 раза ($P < 0,01$ в сравнении с группой сравнения). На 3 сутки значение концентрации белка S100 β практически не изменилось и оставалось на уровне $248,4 \pm 16,6$ ($P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой) с последующей тенденцией к снижению до $224,8 \pm 15,4$ ($P < 0,05$ в сравнении с контрольной группой, $P < 0,05$ в сравнении с 1 и 3 сутками после ЧМТ) (рис. 4.12)

Необходимо отметить, что в первые сутки после ЧМТ была установлена высокая прямая зависимость соотношения всех исследуемых маркеров у выживших и умерших пациентов контрольной группы от тяжести состояния пациентов по ШКГ – чем тяжелее состояние, тем выше значение показателей NSE и S-100 в сыворотке крови. Коэффициенты корреляции между тяжестью состояния пациентов, оцененной по ШКГ и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови составляли 0,53 ($P < 0,05$) и 0,76 ($P < 0,05$). Соответственно, была выявлена высокая корреляция между вероятностью летального исхода и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови. Коэффициент корреляции между вероятностью развития летального исхода и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови составлял соответственно 0,81 ($P < 0,05$) и 0,85 ($P < 0,05$).

У пациентов основной клинической группы при введении АТФ в первые сутки после ЧМТ, аналогичной взаимосвязи между вероятностью летального исхода и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови выявлено не было. Коэффициент корреляции между вероятностью развития летального исхода и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови у пациентов этой группы составлял соответственно 0,38 ($P < 0,05$) и 0,41 ($P < 0,05$). Во всех клинических группах на 3 и 5 сутки статистически значимой взаимосвязи между значением

показателей NSE и S-100 в сыворотке крови и вероятностью летального исхода не прослеживалось.

Таким образом, введение АТФ сопровождается статистически значимым снижением на 3-5 сутки концентрации нейроспецифических белков плазмы крови у пациентов с ЧМТ, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга и ГЭБ. Более низкий коэффициент корреляции между вероятностью развития летального исхода и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови у пациентов основной клинической группы в сравнении с контрольной группой свидетельствует о развитии, на фоне применения АТФ, процессов, изменяющих естественные патофизиологические механизмы повреждения нервной ткани и предотвращающих отсроченную гибель нервных клеток при тяжелой ЧМТ. Подобные результаты соответствуют экспериментальным данным и подтверждают возможность использования нейроспецифических белков плазмы крови NSE и S100 для оценки степени и прогноза повреждения в клинической практике.

Глава 5. ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одной из основных причин смертности и инвалидизации лиц трудоспособного возраста в мире и в Российской Федерации является травматическое повреждение головного мозга. В связи с этим, высокая социальная и медицинская значимость обуславливают актуальность поиска новых методов диагностики и лечения травматических повреждений ЦНС.

В настоящее время для определения степени тяжести травматического повреждения ЦНС и прогноза его исходов используют различные методы инструментальной диагностики и нейровизуализации, основанные на оценке электрофизиологических характеристик головного мозга.

Перспективным в этом направлении является и оценка биохимических маркеров повреждения нервной ткани. Несмотря на достаточную значимость исследования концентрации нейроспецифических белков для оценки тяжести и прогноза ЧМТ, неизученным остается вопрос патогенетической взаимосвязи изменения их концентрации в сыворотке крови с процессами формирования патологического очага повреждения нервной ткани и клиническими проявлениями повреждения.

Традиционно, основные пути патогенетически направленной терапии различных нарушений при черепно-мозговой травме были сосредоточены на коррекции церебральной гемодинамики. Тем не менее, в настоящее время внимание исследователей и врачей привлекают лекарственные препараты с рецепторным механизмом действия, обладающие выраженной саногетической направленностью восстановления нервной ткани после ее повреждения, одними из которых являются агонисты аденозиновых рецепторов.

В связи с этим основной целью данного исследования явилось установление закономерностей изменений биоэлектрической активности мозга, уровней нейроспецифических белков и их взаимосвязей с процессами формирования

повреждений головного мозга для патогенетического обоснования методов их коррекции.

Задачи, поставленные для решения этой цели в данном диссертационном исследовании, требовали комплексного электрофизиологического, патобиохимического и морфологического подходов как в эксперименте на животных, так и в клинической практике.

В связи с этим, нами были спланированы инвазивные экспериментальные исследования на крысах и проведен ретроспективный анализ клинических исходов и изменения биохимических маркеров у пациентов при травматическом повреждении ЦНС в условиях комплексной нейропротекторной терапии в острый период черепно-мозговой травмы на базе нейрохирургического отделения ГБУЗ ТО Областной клинической больницы №2 г. Тюмени.

На 1-м этапе исследования был проведен эксперимент на 30 здоровых беспородных крысах-самцах, весом 180-220 г. Животных содержали в лабораторном виварии при температуре помещения 18-22 °С и естественном световом режиме, использовали стандартную диету, состоящую из брикетированного корма, овощей и воды. Все экспериментальные исследования были одобрены локальным этическим комитетом Тюменского государственного медицинского университета. Вживление электродов, а также другие инвазивные процедуры (трепанация черепа, локальное дозированное сдавление головного мозга) проводились под адекватным обезболиванием (золетил-100, 7,5 мг/кг, внутривенно).

В соответствии с задачами исследования все животные были разделены на 3 основные группы:

– 1-я группа (ложнооперированная) (n=8) была представлена животными только с внутривенным (в/в) введением физиологического раствора (NaCl 0,9% 0,01 мл) без последующего моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга;

– 2-я группа (контрольная) была представлена животными (n=12), которым за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга в/б вводили 1 мл физиологического раствора NaCl (0,9%);

– 3-я группа (основная экспериментальная) была представлена животными (n=10), которым за 30 минут до моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга в/б предварительно вводили 50 мг/кг АТФ. Объем раствора АТФ вводился с учетом массы животного и его концентрации 10 мг/мл (1%).

В качестве основного исследуемого нейропротекторного препарата во всех опытах использовался 1% (10 мг/мл) раствор натрия аденозинтрифосфат (АТФ-Na, АТФ) (ООО Виал, Россия).

У всех обследуемых животных с целью определения концентрации нейроспецифических белков (NSE и S-100b) производилось исследование образцов плазмы венозной крови, полученной путем пункции хвостовой вены за сутки до и на 1-е, 3-и и 5-е сутки после моделирования локального компрессионного повреждения головного мозга.

Содержание NSE и S-100b определяли количественно на анализаторе Elecsys1010 (Швейцария). Концентрацию нейроспецифической енолазы (NSE) и белка S100 β в плазме крови выражали в мкг/мл, в нг/мл, соответственно.

У всех экспериментальных животных, участвовавших в данном исследовании, параллельно осуществлялась ежедневная регистрация спонтанной биоэлектрической активности головного мозга.

На 5 сутки головной мозг животных, сразу же после извлечения из черепной коробки, помещали в забуференный по Лилли 10% раствор формалина. Готовили серийные срезы толщиной 10 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином.

Оценку степени гистопатологических изменений при моделировании необратимой ишемии производили по 4-х бальной гистопатологической шкале (таблица 2.2).

Для исследования поляризационных процессов в коре головного мозга использовали хорошо воспроизводимую модель механического и вторичного ишемического повреждения головного мозга, основанной на локальном компрессионном повреждении [Watanabe S. et al., 2001; Суфианова Г.З., 2003; Суфианов А.А. и соавт., 2006].

При оценке концентраций нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови у крыс в динамике при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга и на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата были получены следующие данные. У всех ложнооперированных крыс в течение первых 5-ти суток не отмечалось статистически значимых изменений концентрации нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови.

При моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга у всех экспериментальных животных контрольной группы в первые сутки отмечалось значительное возрастание уровня нейроспецифической енолазы до $115,2 \pm 34,3\%$ от исходного уровня ($P < 0,01$). На 3-и и 5-е сутки наблюдалось дальнейшее увеличение концентрации этого фермента с максимумом на 3-и сутки эксперимента.

Изменения концентрации белка S100 β в плазме крови были более значимы, и наибольшее увеличение его отмечено на 5-е сутки от исходного уровня.

При профилактическом в/б введении АТФ (50 мг/кг) отмечалась значительно меньшая степень увеличения концентрации нейроспецифических белков плазмы крови. При этом на 3-и и 5-е сутки после повреждения уровень этого фермента в плазме крови у этих животных был значимо меньше, чем в контрольной группе.

В результате проведенного эксперимента установлено, что профилактическое введение АТФ сопровождается менее значительным увеличением концентраций нейроспецифических белков плазмы крови, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга.

Следующим этапом исследования было выявление гистопатологических нарушений при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга и на фоне профилактического введения аденозинтрифосфата.

При гистологическом исследовании фронтальных срезов головного мозга у ложнооперированных крыс грубых патологических изменений нервной ткани выявлено не было.

При локальной компрессии коры головного мозга у крыс установлены выраженные ишемические изменения в очаге повреждения, в то время как при профилактическом внутрибрюшинном введении раствора АТФ (50 мг/кг) отмечено значительное уменьшение выраженности морфологических нарушений, что подтверждает цитопротекторные свойства данного препарата и его метаболитов.

Следующим этапом нашего исследования было применение электрофизиологического метода для оценки изменений уровня постоянного потенциала (УПП) головного мозга при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга у животных в эксперименте и на фоне профилактического введения АТФ.

Изменения уровня постоянного потенциала головного мозга у ложнооперированных животных в течение 5-ти суток характеризовались колебаниями до 1,5 мВ синхронно во всех отведениях. Подобные изменения УПП были статистически не значимы и, вероятно, отражали суточные ритмические колебания биоэлектрической активности мозга

Нейропротекторное действие АТФ сопровождалось замедлением и значительным снижением амплитуды и площади распространения деполяризационных процессов в области повреждения в первые 5 суток, что свидетельствует о замедлении развития и ограничении области компрессионного патологического очага.

В нашем исследовании показано, что у животных основной группы при моделировании локального компрессионного повреждения на фоне применения АТФ отмечалась значительно меньшая степень морфологического повреждения

нервной ткани в очаге компрессии и менее значительное увеличение концентрации нейроспецифических белков плазмы крови, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга и ГЭБ.

Как в контрольной, так и в основной экспериментальной группах на 3-5 сутки после моделирования локального компрессионного повреждения отмечалась высокая корреляция между степенью электронегативных сдвигов УПП в зоне повреждения, концентрациями нейроспецифических белков в плазме крови и выраженностью повреждения головного мозга.

Таким образом, результаты данного экспериментального раздела диссертации подтверждают возможность использования нейроспецифических белков плазмы крови NSE, S100 β и уровня постоянного потенциала головного мозга для оценки степени и прогноза повреждения в эксперименте и открывает перспективы для обоснования использования их в клинической практике.

На основании литературных данных и экспериментального исследования была представлена концептуальная схема механизмов повреждения нервной ткани при локальном компрессионном повреждении головного мозга и оптимизации саногенетических путей воздействия агонистов аденозиновых рецепторов.



Рисунок 5 - Концептуальная схема механизмов повреждения нервной ткани при локальном компрессионном повреждении головного мозга и оптимизации саногенетических путей воздействия агонистов аденозиновых рецепторов

Примечание - желтым цветом выделены механизмы действия агонистов аденозиновых рецепторов на проявления повреждения нервной ткани.

Согласно данным литературы и полученными в эксперименте результатами механизм действия АТФ (после достаточно быстрой деградации до аденозина) связан с воздействием практически на все звенья первичных и вторичных механизмов повреждения нервной ткани (рис. 5).

Аденозин является важным компонентом комплексной эндогенной защиты головного мозга от повреждения в естественных условиях, реализующий свой потенциал путем воздействия на рецепторные механизмы «стратегии толерантности» при неблагоприятных ситуациях. Защитное действие аденозина связывают преимущественно активацией A1 рецепторов, стимуляция которых в естественных условиях приводит к уменьшению выпуска нейротрансмиттеров, гиперполяризации мембраны клеток, уменьшению возбудимости и подавлению спонтанной импульсной активности нейронов ЦНС. Нейропротекторные эффекты аденозина и его аналогов связаны со способностью этих препаратов подавлять процессы ишемической деполяризации и с освобождением возбуждающих аминокислот и других нейротрансмиттеров, играющих важную роль в ишемическом повреждении нейронов. При стимуляции A2 рецепторов дополнительно реализуется противовоспалительный и вазодилатирующий эффект аденозина в период реперфузии после ишемии. Активация A1 и A3 рецепторов активизирует клеточную антиоксидантную защиту, увеличивая активность супероксид-дисмутазы, каталазы и глутатион-редуктазы, что может дополнительно играть роль в механизмах нейропротекторного действия аденозина и его аналогов.

Полученные экспериментальные данные были подтверждены в реальных клинических условиях у пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой.

Было проведено ретроспективное исследование с участием 43 пациентов мужского пола в возрасте от 25 до 55 лет, госпитализированных в отделение нейрохирургии ОКБ №2 (г. Тюмень) в период с 2011 по 2013 гг. по поводу тяжелой черепно-мозговой травмы.

В соответствии с целями исследования все пациенты были разделены на 2 основные клинические группы. Первая (контрольная) группа была представлена 18 пациентами (средний возраст $42,5 \pm 11,9$ г.) с верифицированной черепно-мозговой травмой. Вторая (основная) клиническая группа была представлена 14 пациентами (средний возраст $41,6 \pm 12,3$ г.). С момента поступления и в течение 3-х суток у данных пациентов в составе комплексной нейропротекторной терапии

проводилась пролонгированная внутривенная инфузия 1% (10 мг/мл) раствора натрия аденозинтрифосфата (ООО ВИАЛ, Россия) в дозе 0,5мг/кг/час в течение 2х часов 3 раза в сутки. Пролонгированное введение раствора АТФ осуществляли под контролем артериального давления с использованием автоматизированной шприцевой инфузионной системы Перфузор Спэйс (В. Braun Melsungen AG, Germany).

Анализ основных клинических исходов у пациентов с ЧМТ показал, что пролонгированная инфузия раствора АТФ в остром периоде ЧМТ сопровождалась более быстрым регрессом патологической неврологической симптоматики и значительно меньшей летальностью пациентов основной клинической группы по сравнению с контрольной группой.

В нашем исследовании установлено, что введение АТФ сопровождалось статистически значимым снижением на 3-5 сутки концентрации нейроспецифических белков плазмы крови у пациентов с ЧМТ, что свидетельствует о меньшей степени повреждения структур головного мозга и ГЭБ.

Ретроспективный анализ основных клинических исходов у пациентов с ЧМТ показал, что пролонгированная инфузия раствора АТФ сопровождалась значительно меньшей летальностью пациентов основной клинической группы по сравнению с контрольной группой.

В раннем периоде острой ЧМТ отмечается более низкий коэффициент корреляции между вероятностью развития летального исхода и значением показателей NSE и S-100 в сыворотке крови у пациентов основной клинической группы в сравнении с контрольной группой, что свидетельствует о развитии процессов, изменяющих естественные патофизиологические механизмы повреждения нервной ткани и активирующих саногенетические механизмы, предотвращающих отсроченную гибель нервных клеток при тяжелой черепно-мозговой травме.

Таким образом, проведенное исследование показывает высокую перспективность использования аналогов аденозина с целью нейропротекции и улучшения результатов лечения пациентов с тяжелой черепно-мозговой травмой.

ВЫВОДЫ

1. Степень электроотрицательных сдвигов уровня постоянного потенциала, отражающих формирование локального деполяризационного очага, достигает максимума в 13-15 мВ на 3-5 сутки после моделирования травмы коры головного мозга у экспериментальных животных, при этом уменьшается с отдалением от зоны компрессии.

2. При моделировании локального компрессионного повреждения коры головного мозга у экспериментальных животных в первые сутки отмечалось значительное возрастание уровня нейроспецифической енолазы до $115,2 \pm 34,3\%$ от исходного уровня ($P < 0,01$). На 3 и 5 сутки наблюдалась тенденция к дальнейшему увеличению концентрации этого фермента в среднем до $158,14 \pm 42,1\%$ и $129,64 \pm 33,6\%$ от исходного уровня ($P < 0,01$). Изменения концентрации белка S100 β в плазме крови были более значимы и составили в 1, 3 и 5 сутки выше исходного уровня соответственно на $168,6 \pm 37,5\%$, $189,4 \pm 43,3\%$ и $197,3 \pm 38,4\%$.

3. Отмечается высокая положительная корреляция между сдвигами уровня постоянного потенциала головного мозга в зоне повреждения и концентрацией нейроспецифических белков NSE и S100 β в плазме крови (коэффициент корреляции для NSE и S100 β на 5 сутки после моделирования повреждения составлял 0,83 ($P < 0,05$) и 0,72 ($P < 0,05$), соответственно), что свидетельствует о тесных взаимосвязанных нейродинамических процессах в очаге повреждения, сопровождающих функциональные нарушения, повреждение нервных клеток, глии и гематоэнцефалического барьера.

4. При профилактическом введении АТФ в эксперименте наблюдается уменьшение амплитуды уровня постоянного потенциала головного мозга на 62-68% от уровня контрольной группы и

распространенности деполяризационных процессов в зоне локального компрессионного повреждения головного мозга, менее значимое увеличение концентрации нейроспецифических белков плазмы крови и уменьшение морфологического дефицита по сравнению с контрольной группой на 36,8%.

5. Наблюдаемые изменения динамики концентрации нейроспецифических белков в плазме крови коррелируют с исходами и летальностью пациентов в остром периоде черепно-мозговой травмы и соответствуют аналогичным изменениям, полученным в эксперименте при моделировании локального компрессионного повреждения головного мозга.

6. У пациентов с черепно-мозговой травмой пролонгированная внутривенная инфузия АТФ (0,5 мг/кг/час в течение 2-х часов, 3 раза в сутки) сопровождается статистически значимым снижением частоты летальных исходов и улучшением клинических результатов лечения травматического повреждения головного мозга, а также менее значимым увеличением на 3-5 сутки концентрации нейроспецифических белков плазмы крови в сравнении с аналогичными изменениями у пациентов контрольной клинической группы, что сопоставимо с результатами эксперимента и свидетельствует о меньшей степени вторичного ишемического повреждения структур головного мозга и ГЭБ у пациентов в острый период ЧМТ.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Определение нейроспецифических белков S100 β и NSE в плазме крови подтверждает степень повреждения нейронов и гематоэнцефалического барьера и является информативным показателем наличия неврологического дефицита у больных в остром периоде черепно-мозговой травмы. Определение концентрации данных белков в плазме крови в динамике у пациентов в остром периоде ЧМТ является информативным показателем эффективности нейропротекторной терапии.

2. Высокая диагностическая значимость регистрации УПП, как показателя степени поляризации нервной ткани, предполагает перспективность использования данного метода исследования в эксперименте и клинической практике для диагностики повреждения нервной ткани и оценки потенциальных нейропротекторных свойств новых лекарственных препаратов.

3. Целесообразно использование препаратов аденозина, уже используемых в клинической практике, в составе комплексной нейропротекторной терапии черепно-мозговой травмы и в предоперационной подготовке у пациентов с заболеваниями и повреждениями головного мозга.

СПИСОК СОРАЩЕНИЙ

АТФ – аденозинтрифосфарная кислота

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

РД – распространяющаяся депрессия

УПП – уровень постоянного потенциала

ФС – функциональное состояние

ЦНС – центральная нервная система

ЧМТ – черепно-мозговая травма

S100 β - кальций-связывающий нейроспецифический белок

NSE – нейронспецифическая енолаза

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александров, Ю.И. Психофизиология: Учебник для вузов/ Ю.И. Александров. - СПб.: Питер, 2014. - 464 с.
2. Аракелян, А.С. Изменение уровня постоянного биоэлектрического потенциала мозга при эмоциональных и физических нагрузках / А.С. Аракелян, А.Н. Долецкий // XXII Съезд Физиологического общества имени И.П. Павлова. Тезисы докладов. - Изд-во ВолгГМУ, 2013. - С. 33.
3. Белов, А.Д. Болезни собак/ А.Д. Белов, Е.П. Данилов, И.И. Дукур. - М.: Колос, 1992. - 368 с.
4. Бойцова, Ю.А. Сравнительное исследование количественных характеристик ЭЭГ и сверхмедленной активности мозга человека в диапазоне секундных колебаний: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.13/ Бойцова Юлия Александровна. - Санкт-Петербург, 2007. - 17 с.
5. Боровов, Ю.М. Применение пуриновой анальгезии в качестве компонента общей анестезии в амбулаторных условиях: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.20/ Боровов Юрий Михайлович. - Санкт-Петербург, 2011.
6. Ващенко, А.С. Оценка устойчивых постоянных потенциалов головного мозга в контроле за уровнем функциональной готовности спортсменов к тренировочной и соревновательной деятельности / А.С. Ващенко, А.С. Павлов // Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции «Спорт и медицина. Сочи-2013». Тезисы докладов. - Сочи, 2013.- 365 с.
7. Виничук, С.М. Феномен диашиза после острого мозгового инсульта: клинические проявления и диагностика/ С.М. Виничук, А.С. Трепет// Междунар. неврол. журн. - 2014. - №6. - С. 19-26.
8. Виноградова, Л.В. Нейрофизиологические механизмы рефлекторной аудиогенной эпилепсии: дис. ... докт. биол. наук: 03.03.01/ Виноградова Людмила Владиславовна. - Москва, 2014. - 193 с.

9. Вставская, Т.Г. Комплексная клинико-нейрофизиологическая диагностика поражения стволовых структур головного мозга у больных с позвоночно-спинномозговой травмой шейного отдела: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.11/ Вставская Татьяна Григорьевна. - Екатеринбург, 2013. - 162 с.
10. Сверхмедленные физиологические процессы головного мозга человека и животных в экспериментальных и клинических исследованиях / Н.М. Галимов, Э.Р. Вильданов, И.И. Хидиятов [и др.] // Медицинский вестник Башкортостана. - 2009. - №3. - С. 63-69.
11. Гиниатуллин, Р.А. Нейрофизиологические механизмы мигрени и новые принципы патогенетического лечения / Р.А. Гиниатуллин // Казанский мед.ж. - 2011. - Т. 92, №5. - С. 728-735.
12. Церебральный инсульт / Е.И. Гусев, М.Ю. Мартынов, П.Р. Камчатнов [и др.] // Consilium medicum. - 2014. - №16. - С. 13-17.
13. Данилевич, М.О. Тяжелая черепно-лицевая травма: особенности клинического течения и мультидисциплинарный подход к комплексному лечению: дис. ... докт. мед. наук: 14.01.18 / Данилевич Марина Олеговна. - Санкт-Петербург, 2016. - 283 с.
14. Данилов, Г.В. Кровоток в стволе головного мозга при черепно-мозговой травме: клинические, нейровизуализационные и патофизиологические корреляты: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.18 / Данилов Глеб Валерьевич. - Москва, 2015. - 238 с.
15. Анализ распределения уровня постоянного потенциала головного мозга в оценке функционального состояния организма / И.С. Депутат, А.Н. Нехорошкова, А.В. Грибанов [и др.] // Экология человека. - 2015. - № 10. - С. 27–36.
16. Джос, Ю.С. Особенности электроэнцефалограммы и распределения уровня постоянного потенциала головного мозга у детей-северян младшего школьного возраста / Ю.С. Джос, А.Н. Нехорошкова, А.В. Грибанов // Экология человека. - 2014. - №12. - С. 15-20.

17. Дружинина, Е.Л. Клиническая эффективность терапии больных ИБС и ХОБЛ с применением аденозина: дис. ... канд. мед. наук: 14.01.04 / Дружинина Елена Леонидовна. - Воронеж, 2011. - 103 с.
18. Ерофеев, Н.П. Физиология центральной нервной системы: Учебное пособие / Н.П. Ерофеев. - СПб.: СпецЛит, 2014. -192 с.
19. Заболотских, И.Б. Прогнозирование неадекватной седации при эпидуральной анестезии / И.Б. Заболотских, Е.В. Песняк, Ю.П. Малышев // Регионарная анестезия и лечение острой боли. - 2008. - №3. - С. 43-48.
20. Зенков, Л.Р. Клиническая электроэнцефалография (с элементами эпилептологии): Руководство для врачей / Л.Р. Зенков. – М.: МЕДпресс-информ, 2017. – 360 с.
21. Зенков, Л.Р. Функциональная диагностика нервных болезней: Руководство для врачей / Л.Р. Зенков, М.А. Ронкин. – М.: МЕДпресс-информ, 2013. – 488 с.
22. Иванов, А.А. Этология с основами зоопсихологии: Учебное пособие / А.А. Иванов. - СПб.: Издательство «Лань», 2007. - 624 с.
23. Илюхина, В.А. Психофизиология функциональных состояний и познавательной деятельности здорового и больного человека / В.А. Илюхина. - СПб.: Изд-во Н-Л, 2010. - 368 с.
24. Каратеев, А.Е. Эйкозаноиды и воспаление / А.Е. Каратеев, Т.Л. Алейникова // Современная ревматология. - 2016. - №10. - С. 73–86.
25. Карелов, А.Е. Механизмы действия и клиническое применение неселективных агонистов пуриновых рецепторов: автореф. дис. ... док. мед. наук: 14.01.20 / Карелов Алексей Евгеньевич. - Санкт-Петербург, 2012.
26. Карелов, А.Е. Особенности хирургического стресса при пуринэргической анальгезии: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.01.20 / Карелов Алексей Евгеньевич. - Санкт-Петербург, 2005.– 24 с.
27. Карелов, А.Е. Применение пуринов в анестезиологии и интенсивной терапии / А.Е. Карелов // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2006. – Т. 165, № 4. – С. 102-105.

28. Карелов, А.Е. Механизмы и клиническое применение пуриновой анальгезии / А.Е. Карелов // Вестник интенсивной терапии. – 2008. – № 5. – С. 13-16.
29. Карелов, А.Е. Пуриновая анальгезия: результаты экспериментов и клиническое применение / А.Е. Карелов // Анестезиология и реаниматология. – 2010. – № 6. – С. 86-89.
30. Карелов, А.Е. Пуриновая анальгезия: физиологические механизмы / А.Е. Карелов // Анестезиология и реаниматология. – 2009. – № 2. – С. 76-78.
31. Карелов, А.Е. Пуриновая анальгезия: восьмилетний опыт применения / А.Е. Карелов, К.М. Лебединский, А.М. Зайчик // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2006. – Т. 165, № 6. – С. 136-137.
32. Клочихина, О.А. Анализ эпидемиологических показателей инсульта по данным территориально-популяционных регистров 2009-2012 г.г./ О.А. Клочихина, Л.В. Стаховская // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С.Корсакова. - 2014.- №114. - С. 63-69.
33. Роль аденозина в регуляции функций сердечно-сосудистой системы / В.И. Козловский, В.В. Зинчук, П.Б. Станкевич, С. Хлопицкий // Журнал ГрГМУ. - 2007. - №1. - С. 49-53.
34. Крылов, В. В. Декомпрессивная трепанация черепа при тяжелой черепно-мозговой травме / В.В. Крылов, А.Э. Талыпов, Ю.В. Пурас. - Москва, 2014. - 272 с.
35. Крылов, В.В. Нейрореаниматология: Практическое руководство / В.В. Крылов, С.С. Петриков, Г.Р. Рамазанов, А.А. Солодов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. - 176 с.
36. Крылов, В.В. Черепно-мозговая травма у горнолыжников / В.В. Крылов // Нейрохирургия. - 2015. - №4.- С. 3-7.
37. Кулинич, О.В. Взаимосвязь уровня постоянного потенциала с показателями водно-электролитного баланса в периоперационный период / О.В. Кулинич, С.П. Дашевский // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 12(3). – С. 499-503.

38. Новые пути защиты головного мозга от глобальной ишемии / В.И. Кулинский, Л.Н. Минакина, С.С. Гаврилов, Т.В. Гаврилина // Журнал неврологии и психиатрии. Инсульт. - 2006. - №17. - С. 77-86.
39. Лебедев, О.В. Общая анестезия на основе аденозина при лапароскопической холецистэктомии: дисс. ... канд. мед. наук: 14.00.37/ Лебедев Олег Владимирович. - Москва, 2007. – 90 с.
40. Лебединский, К.М. Анестезия и системная гемодинамика: оценка и коррекция системной гемодинамики во время операции и анестезии / К.М. Лебединский. - СПб.: Издательство «Человек», 2000 г. - 200 с.
41. Лебединский, К.М. Интенсивность аэробного энергетического обмена при пуриновой анальгезии во время плановых абдоминальных операций / К.М. Лебединский, А.Е. Карелов // Вестник интенсивной терапии. - 2006. – №5. – С. 137–139.
42. Литвицкий, П.Ф. Общая этиология расстройств нервной деятельности. Нейрогенные патологические синдромы / П.Ф. Литвицкий // Вопросы современной педиатрии. - 2013. - №12. - С. 73-90.
43. Лысенко, Л.В. Исследование потенциал-зависимых механизмов влияния постоянного электрического тока на функционирование колонок соматической коры мозга крыс: дис. ... канд. биол. наук: 03.03.01/ Лысенко Лариса Валерьевна. - Ростов-на-Дону, 2010. – 138 с.
44. Миндияров, А.Ю. Сверхмедленные биопотенциалы в прогнозировании постнаркозного восстановления сознания: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.37/ Миндияров Александр Юрьевич. - Ростов-на-Дону, 2009. - 145 с.
45. Мозгов, И.Е. Фармакология / И.Е. Мозгов. - М.: Агропромиздат, 1985. – 414 с.
46. Мурик, С.Э. Общая схема адаптации нервных клеток: новый взгляд // Междисциплинарная научная конференция «Адаптационные стратегии живых систем». – Крым, 2012. – С. 82.

47. Мурик, С.Э. Оценка функционального состояния организма человека. Ч.1. Теоретические основы: Учебное пособие / С. Э. Мурик. – Иркутск: Изд-во ИГУ, 2013. – 159 с.
48. Мурик, С.Э. Психология и физиология функциональных состояний человека / С. Э. Мурик. - Deutschland: LAP LAMBERT Academic Publishing, 2013. - 310 с.
49. Экспериментальные данные об электрофизиологических коррелятах ишемии мозга разной тяжести / С.Э. Мурик, А.А. Суфианов, Г.З. Суфианова, А.Г. Шапкин // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2003. – № 1. – С.148–154.
50. Парфенов, В.А., Хасанова Д.Р. Ишемический инсульт / В.А. Парфенов, Д.Р. Хасанова. – М.: ООО МИА, 2012. – 288 с.
51. Петренко, О.А. Протективное воздействие ишемического прекондиционирования аденозином при реканализации и стентировании больных с сахарным диабетом 2 типа: дис. ... канд. мед. наук: 14.03.03 / Петренко Оксана Алексеевна. - Воронеж, 2012. – 100 с.
52. Клинические рекомендации лечение пострадавших с тяжелой черепно-мозговой травмой / А.А. Потапов, В.В. Крылов, Л.Б. Лихтерман, А.Э. Талыпов, А.Г. Гаврилов, С.С. Петриков. – Москва, 2014.
53. Пурас, Ю.В. Механизмы эволюции очагов ушиба головного мозга / Ю.В. Пурас, А.Ю. Кордонский, А.Э. Талыпов // Нейрохирургия. - 2013. - № 4. - С. 91-96.
54. Пурас, Ю.В. Факторы риска развития неблагоприятного исхода в хирургическом лечении острой черепно-мозговой травмы / Ю.В. Пурас, А.Э. Талыпов // Нейрохирургия. - 2013. - № 2. - С. 8-16.
55. Глиальное происхождение отрицательных сдвигов потенциала поверхности коры мозга при ее тетаническом раздражении: микроэлектродное исследование и математический анализ / А.И. Ройтбак, В.В. Фанарджян, Д.С. Мелконян, А.А. Мелконян // Нейрофизиология.–1983.–Т. 15, №5.– С. 509–516.
56. Нейропротекторное действие при глутаматной эксайтотоксичности пептидов-аналогов привязанного лиганда, освобождаемого активированным

- протеином С / И.Г. Савинкова, Л.Р. Горбачева, Ж.Д. Беспалова, В.Г. Пинелис, С.М. Струкова // Биологические мембраны. - 2013. - Т. 30, №5-6. - С.468-473.
57. Скворцова, В.И. Геморрагический инсульт. Практическое руководство / В.И. Скворцова, В.В. Крылов. – М.: ГЭОТАР–Медиа, 2005. – 160 с.
58. Сосновский, Е.А. Биохимические маркеры черепно-мозговой травмы / Е.А. Сосновский, Ю.В. Пурас, А.Е. Талыпов // Нейрохирургия. - 2014. - № 2. - С. 83-91.
59. Сотников, П.И. Обзор методов обработки сигнала электроэнцефалограммы в интерфейсах мозг-компьютер / П.И. Сотников // Инженерный вестник. - 2014. - №10. - С. 612-632.
60. Стаховская, Л.В. Инсульт: Руководство для врачей / Л.В. Стаховская, С.В. Котов. – М.: ООО МИА, 2014. – 400 с.
61. Влияние локального компрессионного повреждения на биоэлектрическую активность головного мозга / А.А. Суфианов, Г.З. Суфианова, А.Г. Шапкин, Ю.Г. Шапкин, М.В. Таборов // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 2. – С. 198–201.
62. Суфианова, Г.З. Нейропротекторное действие агонистов аденозиновых рецепторов при фокальных ишемических и травматических повреждениях ЦНС: дис. ... доктора. мед. наук: 14.00.25 / Суфианова Галина Зиновьевна. Санкт-Петербург, 2003.
63. Суфианова, Г.З. Влияние циклопентиладенозина на интенсивность перекисного окисления липидов при фокальной ишемии головного мозга/ Г.З. Суфианова, А.А. Суфианов, А.Г. Шапкин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – Т. 157, №2. – С. 190–194.
64. Электрофизиологические корреляты защитного действия аденозинтрифосфата при локальном компрессионном повреждении спинного мозга / Г.З. Суфианова, А.А. Суфианов, А.Г. Шапкин [и др.] // Российский нейрохирургический журнал им. проф. А.Л. Поленова. – 2015. – Т.7, №1. – С. 46–52.

65. Суфианова, Г.З. Повреждение нервной ткани: механизмы, модели, методы оценки / Г.З. Суфианова, А.Г. Шапкин. - М.: Издательство РАМН, 2014. - 288 с.
66. Исследование уровня протеина S-100 beta у пострадавших с черепно-мозговой травмой легкой степени тяжести / А.Э. Талыпов, Ю.В. Пурас, М.А. Годков [и др.] // Нейрохирургия. - 2011. - № 1. - С. 49-53.
67. Фокин, В.Ф. Электрофизиологические корреляты скорости движения крови по средней мозговой артерии здорового человека / В.Ф. Фокин, Н.В. Пономарева, Г.И. Кунцевич // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2013. - №68. - С. 57-60.
68. Сосудистая реактивность, вызванная когнитивной нагрузкой, у больных с дисциркуляторной энцефалопатией / В.Ф. Фокин, Н.В. Пономарева, Р.Б. Медведев [и др.] // Ассиметрия. - 2016. - Т. 10. - С. 18-31.
69. Шапкин, А.Г. Диагностические возможности регистрации спонтанной биоэлектрической активности и механизмы изменения функционального состояния спинного мозга при повреждении (экспериментально–клиническое исследование): дис. ... канд. мед. наук: 14.01.18 / Шапкин Андрей Григорьевич. - Новосибирск, 2005. – 160 с.
70. Шапкин, Ю.Г. Исследование механизмов ишемической деполяризации при локальном компрессионном повреждении коры головного мозга на фоне действия нейротропных препаратов: дис. ... биол. наук: 14.00.16 / Шапкин Юрий Григорьевич. - Новосибирск, 2007. – 140 с.
71. Шаяхметова, Э.Ш. Сверхмедленные электрофизиологические процессы головного мозга человека диапазона 0-0,5 Гц в экстремальных условиях деятельности / Э.Ш. Шаяхметова, А.Х. Кальметьев, Р.М. Муфтахина, Л.Г. Нагорная, А.Ф. Каюмова, Л.Н. Шафиева. - Издательство Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы, 2014. - 178 с.
72. Abdelkader N.F. Neuroprotective effect of nebivolol against cisplatin-associated depressive-like behavior in rats / N.F. Abdelkader, M.A. Saad, R.M. Abdelsalam // J Neurochem. - 2017. - 141(3). - P. 449-460.

73. Detection of traumatic brain injury with magnetic resonance imaging and S-100B protein in children, despite normal computed tomography of the brain / J.I. Akhtar, R.M. Spear, M.O. Senac, [et al.] // *Pediatr Crit Care Med.* - 2003. - 4(3). - P. 322-326.
74. Alawieh A. Complement in the Homeostatic and Ischemic Brain / A. Alawieh, A. Elvington, S. Tomlinson // *Front Immunol.* – 2015. – 6. – P. 417.
75. Allard D. A2 adenosine receptors in cancer / D. Allard, M. Turcotte, J. Stagg // *Immunol Cell Biol.* - 2017. - 95(4). - P. 333-339.
76. Anastasian Z.H. Anaesthetic management of the patient with acute ischaemic stroke / Z.H. Anastasian // *Br J Anaesth.*– 2014.– 113(2). – P. 9–16.
77. Armogida M. Therapeutic potential of targeting hydrogen peroxide metabolism in the treatment of brain ischaemia / M. Armogida, R. Nisticò, N.B. Mercuri // *Br J Pharmacol.* - 2012. - 166(4). - P. 1211-1224.
78. Role of Antioxidants in Neonatal Hypoxic-Ischemic Brain Injury: New Therapeutic Approaches / O. Arteaga, Álvarez A, M. Revuelta, F. Santaolalla [et al.] // *Int J Mol Sci.* - 2017. - 28;18(2). - P. E265.
79. Neuroprotective delivery platforms as an adjunct to mechanical thrombectomy / R.M. Babadjouni, B.P. Walcott, Q. Liu [et al.] // *Neurosurg Focus.* - 2017. - 42(4). - P. E4.
80. Back T. Induction of spreading depression in the ischemic hemisphere following experimental middle cerebral artery occlusion: effect on infarct morphology / T. Back, M.D. Ginsberg, W.D. Dietrich [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1996. – Vol.16. – P.202–213.
81. Back T. Three–dimensional image analysis of brain glucose metabolism–blood flow uncoupling and its electrophysiological correlates in the acute ischemic penumbra following middle cerebral artery occlusion / T. Back, W. Zhao, M.D. Ginsberg // *J. Cereb. Blood Flow Metab.*– 1995.–Vol. 15.– P. 566–577.
82. Bantel C. Role of adenosine receptors in spinal G–protein activation after peripheral nerve injury / C. Bantel, S.R. Childers, J.C. Eisenach // *Anesthesiology.* – 2002. – Vol.96, №6. – P.1443–1449.

83. Baptiste L. Cortical spreading depolarization: an underestimated phenomenon after human brain injury? / L. Baptiste, S. Marinesco, T. Lieutaud // *Neurochirurgie*. - 2013. - 59(1). - P. 35-38.
84. In vivo multiparametric monitoring of brain functions under intracranial hypertension following mannitol administration / E. Barbiro-Michaely, A. Mayevsky, N. Knoller [et al.] // *Neurol. Res.* - 2005. - Vol.27, №1. - P. 88-93.
85. Non-invasive monitoring of spreading depression / Z.J. Bastany, S. Askari, G.A. Dumont [et al.] // *Neuroscience*. - 2016. - 1:333. - P. 1-12.
86. Bauer G. EEG, Drug Effects and Central Nervous System / G. Bauer, R. Bauer // In: *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications and Related Fields*. Eds. Neidermyer E., Lopes da Silva F., 5th ed. - Lippincott Williams&Wilkins: Philadelphia. - 2005. - P. 701-724.
87. Serum neuron-specific enolase, S100B, and myelin basic protein concentrations after inflicted and noninflicted traumatic brain injury in children / R.P. Berger, P.D. Adelson, M.C. Pierce [et al.] // *J Neurosurg.* - 2005. - 103(1 Suppl). - P. 61-68.
88. Lactate and postischemic recovery of energy metabolism and electrical activity in the isolated perfused rat brain / A. Bock, F. Tegtmeier, A.J. Hansen [et al.] // *J. Neurosurg. Anesthesiol.* - 1993. - 5(2). - P. 94-103.
89. Neuron-specific enolase, S100B, and glial fibrillary acidic protein levels as outcome predictors in patients with severe traumatic brain injury / A.E. Böhmer, J.P. Oses, A.P. Schmidt [et al.] // *Neurosurgery*. - 2011. - 68(6). - P. 1624-1630.
90. Bouvier D. Interest of S100B protein blood level determination in severe or moderate head injury/ D. Bouvier // *Ann Biol Clin (Paris)*. - 2013. - 71(2). - P. 145-1450.
91. Role of synaptic and nonsynaptic glutamate receptors in ischaemia induced neurotoxicity / A. Brassai, R.G. Suvanjev, E.G. Bán, M. Lakatos // *Brain Res Bull.* - 2015. - 112. - P. 1-6.
92. Brooke R.E. Input-specific modulation of neurotransmitter release in the lateral horn of the spinal cord via adenosine receptors / R.E. Brooke, J. Deuchars, S.A. Deuchars // *J. Neurosci.* - 2004. - Vol.24, №1. - P.127-137.

93. Current therapies in ischemic stroke. Part B. Future candidates in stroke therapy and experimental studies / E. Broussalis, E. Trinkka, M. Killer [et al.] // *Drug Discov Today*. - 2012. - 17(13-14). - P. 671-84.
94. Simultaneous cerebral glucography with positron emission tomography and topographic electroencephalography / M.S. Buchsbaum, R. Kessler, A. King [et al.] // *Prog. Brain Res.*—1984.—V.62.—P.263–269.
95. Changes in the constant potential in brain structures in rats during focal ischemia and systemic hypoxia / Y. Buresh, V.I. Koroleva, O.S. Korolev, V. Maresh // *Neurosci. Behav. Physiol.* —1999.—V.29, №5. -P. 569–579.
96. Burnstock G. Purinergic signalling: past, present and future / G. Burnstock // *Braz. J. Med. Biol. Res.* – 2009. – 42(1). – P. 3–8.
97. Burnstock G. Purinergic signalling: pathophysiology and therapeutic potential / G. Burnstock // *Keio J Med.* - 2013. – 62(3). – P. 63–73.
98. Burnstock G. Introduction to purinergic signalling in the brain / G. Burnstock // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2013.– 986. – P. 1–12.
99. Burnstock G. Purinergic signalling: from discovery to current developments/ G. Burnstock // *Exp Physiol.* – 2014. – 99(1). – P. 16–34.
100. Burnstock G. Adenosine and ATP receptors in the brain / G. Burnstock, B.B. Fredholm, A. Verkhratsky // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2011. – 11(8). – P. 973–1011.
101. Purinergic signalling: from normal behaviour to pathological brain function / G. Burnstock, U. Krügel, M.P. Abbracchio, P. Illes // *Prog Neurobiol.* - 2011. - 95(2). - P. 229-274.
102. Potassium-induced cortical spreading depressions during focal ischemia in rats: contribution to lesion growth assessed by diffusion-weighted NMR and biochemical imaging / E. Busch, M.L. Gyngell, M. Eis [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 1996.—V.16.— P. 1090–1099.
103. Pericytes in Brain Injury and Repair After Ischemic Stroke / W. Cai, H. Liu, J. Zhao [et al.]// *Transl Stroke Res.* - 2017. - 8(2). - P. 107-121.

104. Campbell B.C. Vessel occlusion, penumbra, and reperfusion - translating theory to practice / B.C. Campbell, G.A. Donnan, S.M. Davis // *Front Neurol.* - 2014. - 30(5). - P. 194.
105. Caspers H. Mechanisms of EEG Generation Historical and Present Aspects / H. Caspers // In: *Basic Mechanisms of the EEG.* St. Zschocke & E.-J. Speckmann. Berkhauser: Boston. - 1993. - PP. 1–12.
106. Castellucci V.F. Contribution to steady potential shifts of slow depolarization in cells presumed to be glia / V.F. Castellucci, S. Goldring // *Electroenceph. Clin. Neurophysiol.*–1970.–V.28.–P.109–118.
107. Neuron-specific enolase and S100BB as outcome predictors in severe diffuse axonal injury / S.Y. Chabok, A.D. Moghadam, Z. Saneei [et al.] // *J Trauma Acute Care Surg.* - 2012. - 72(6). - P. 1654-1657.
108. Che N. Protective Role of Fucoidan in Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury through Inhibition of MAPK Signaling Pathway / N. Che, Y. Ma, Y. Xin // *Biomol Ther (Seoul).* - 2017. - 1:25(3). - P. 272-278.
109. Temperature modulation of cerebral depolarization during focal cerebral ischemia in rats: correlation with ischemic injury / Q. Chen, M. Chopp, G. Bodzin [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.*–1993.–V.13.–P. 389–394.
110. Optogenetic analysis of neuronal excitability during global ischemia reveals selective deficits in sensory processing following reperfusion in mouse cortex / S. Chen, M.H. Mohajerani, Y. Xie, T.H. Murphy // *J Neurosci.* - 2012. - 26;32(39). -P. 13510-13519.
111. The prognostic value of serum neuron-specific enolase in traumatic brain injury: systematic review and meta-analysis / F. Cheng, Q. Yuan, J. Yang [et al.] // *PLoS One.* - 2014. - 4;9(9). - P. e106680.
112. Ionic homeostasis in brain conditioning / O. Cuomo, A. Vinciguerra, P. Cerullo, [et al.] // *Front Neurosci.* – 2015. – 9. – P. 277.
113. Davis S. Time is Penumbra: imaging, selection and outcome. The Johann Jacob wepfer award 2014 / S. Davis, G.A. Donnan // *Cerebrovasc Dis.* - 2014. - 38(1). - P. 59-72.

114. De Lander G.E. Spinal adenosine modulates descending antinociceptive pathways stimulated by morphine / G.E. De Lander, C.J. Hopkins // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1986. – Vol.239, №1. – P.88–93.
115. Delgado-Marín L. A. Neuroprotective effects of gabaergic phenols correlated with their pharmacological and antioxidant properties / L. Delgado-Marín, M. Sánchez-Borzone, D.A. García // *Life Sci.* - 2017. - 15(175). - P. 11-15.
116. Correlation between tissue depolarizations and damage in focal ischemic rat brain / R.M. Dijkhuizen, J.P. Beekwilder, H.B. Van der Worp [et al.] // *Brain Res.*– 1999.– 4;840(1–2). – P. 194–205.
117. Tissue distribution of adenosine receptor mRNAs in the rat / A.K. Dixon, A.K. Gubitz, D.J.S. Sirinathsinghji [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 1996. – Vol.118. –P.1461–1468.
118. Intraspinal injection of adenosine agonists protect against L-NAME induced neuronal loss in the rat / C.D. Dora, S. Koch, A. Sanchez [et al.] // *J. Neurotrauma.*– 1998.–Vol.15,N7.– P.473–483.
119. Dreier J.P. Partial antagonistic effect of adenosine on inverse coupling between spreading neuronal activation and cerebral blood flow in rats / J.P. Dreier, K. Tille, U. Dirnagl // *Neurocrit. Care.*–2004.–1(1).–P.85–94.
120. Ekmektzoglou K.A. Biochemical markers (NSE, S-100, IL-8) as predictors of neurological outcome in patients after cardiac arrest and return of spontaneous circulation / K.A. Ekmektzoglou, T. Xanthos, L. Papadimitriou // *Resuscitation.* - 2007. - 75(2). -P. 219-28.
121. Faas M.M. Extracellular ATP and adenosine: The Yin and Yang in immune responses? / M.M. Faas, T. Sáez, P. de Vos // *Mol Aspects Med.* - 2017. - 16. - P. S0098-2997(16)30082-6.
122. Pharmacological models and approaches for pathophysiological conditions associated with hypoxia and oxidative stress/ J.G. Farías, E.A. Herrera, C. Carrasco-Pozo [et al.] // *Pharmacol Ther.* - 2016. - 158. - P. 1-23.
123. Fishman P. Pharmacology and therapeutic applications of A3 receptor subtype / P. Fishman, S. Bar-Yehuda // *Curr Top Med Chem.* - 2003. - 3(4). - P. 463-469.

124. Fishman P. The A3 adenosine receptor (A3AR): therapeutic target and predictive biological marker in rheumatoid arthritis / P. Fishman, S. Cohen // *Clin Rheumatol.* - 2016. - 35(9). - P. 2359-2362.
125. Fozard J.R. BW-A 522 blocks adenosine A3 receptor-mediated hypotensive responses in the rat / J.R. Fozard, J.P. Hannon // *Eur. J. Pharmacol.* - 1994. - Vol.252. - R5-R6.
126. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXI. Nomenclature and classification of adenosine receptors:an update / B.B. Fredholm, A.P. IJzerman, K.A. Jacobson [et al.] // *Pharmacol Rev.* - 2011. - 63(1). - P. 1-34.
127. Hypothermia related changes in electrocortical activity at stepwise increase of intracranial pressure in piglets / H. Fritz, R. Bauer, B. Walter, O. Schlonski [et al] // *Exp. Toxicol. Pathol.* - 1999. - Vol.51, №2. - P.163-171.
128. Use of adenosine to control acute hemodynamic responses during surgical anesthesia and postoperative pain in drug abuse patients / A. F. Fukunaga, G. E. Alexander, R. L. Cheng [et al.] // *A.* - 1998. - Vol. 89, Suppl. - A353.
129. Fukunaga A. F. Characterization of the analgesic actions of adenosine: comparison of adenosine and remifentanil infusions in patients undergoing major surgical procedures / A. F. Fukunaga, G. E. Alexander, C. W. Stark // *Pain.* - 2003. - Vol.101. - P. 129-138.
130. Galambos R. A. Glia-neural theory of brain function / R. A. Galambos // *Proc. Nat. Acad. Sci.*-1961.-V.47.- P.129-136.
131. Diagnostic value of S100B and neuron-specific enolase in mild pediatric traumatic brain injury/ C. Geyer, A. Ulrich, G. Gräfe [et al.] // *J Neurosurg Pediatr.* - 2009. - 4(4). - P. 339-44.
132. Astrocyte-mediated inflammation in cortical spreading depression / A. Ghaemi, L. Alizadeh, S. Babaei [et al.] // *Cephalalgia.* - 2018. - 38(4). - P. 626-638.
133. Gorji A. Spreading depression: a review of the clinical relevance / A. Gorji // *Brain Res. Rev.*- 2001.-Vol.38,N1-2.- P. 33-36.
134. Spinal and cortical spreading depression enhance spinal cord activity / A. Gorji, P.K. Zahn, E.M. Pogatzki [et al.] // *Neurobiol. Dis.* - 2004. - Vol.15, №1.-P. 70-79.

135. Modulation of cerebral RAGE expression following nitric oxide synthase inhibition in rats subjected to focal cerebral ischemia / R. Greco, C. Demartini, A.M. Zanaboni [et al] // *Eur. J. Pharmacol.* - 2017. - 5;800. - P. 16-22.
136. Increased susceptibility to cortical spreading depression in an animal model of medication-overuse headache / A.L. Green, P. Gu, M. De Felice [et al.] // *Cephalalgia.* - 2014. - 34(8). - P. 594-604.
137. Haider M. Event-related slow (DC) potentials in the human brain / M. Haider, E. Groll-Knapp, J.A. Ganglberger // *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* -1981.-V.88.- P. 126-197.
138. Hannon J.P. A role for mast cells in adenosine A3 receptor-mediated hypotension in the rat / J.P. Hannon, H.J. Pfannkuche, J.R. Fozard // *Br. J. Pharmacol.* - 1995. - Vol.115. - P.945-952.
139. Hermann D.M. Biochemical changes and gene expression following traumatic brain injury: Role of spreading depression / D.M. Hermann, G. Mies, K.A. Hossmann // *Restor. Neurol. Neurosci.* - 1999. - Vol.14, №2-3. - P.103-108.
140. Heron A. Adenosine modulation of aminoacid release in rat hippocampus during ischemia and veratridine depolarization / A. Heron, F. Lasbennes, J. Seylaz // *Brain Res.*- 1993.-Vol.608.-P. 27-32.
141. Evaluation of adenosine agonists as potential analgetics / K. Herrick-Devis, S. Chippari, D. Luttinger [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* - 1989. - Vol.162, №2. -P.365-369.
142. Release of glial tissue-specific proteins after acute stroke: A comparative analysis of serum concentrations of protein S-100B and glial fibrillary acidic protein / M. Herrmann, P. Vos, M.T. Wunderlich [et al] // *Stroke.* - 2000. - 31(11). -P. 2670-2677.
143. Spreading depolarizations mediate excitotoxicity in the development of acute cortical lesions / J.M. Hinzman, V.A. DiNapoli, E.J. Mahoney [et al.] // *Exp Neurol.*- 2015.- 267.- P. 243-253.
144. Induction of astrocytic nestin expression by depolarization in rats / S. Holmin, C. Von Gertten, A.C. Sandberg-Nordqvist [et al.] // *Neurosci Lett.*- 2001.- Vol.314,N3.- P.151-155.

145. Hossmann K.A. Glutamate hypothesis of stroke / K.A. Hossmann // Fortschr. Neurol. Psychiatr. – 2003. – Vol.71, Suppl. 1. – S.10–15.
146. Hossmann K.A. Periinfarct depolarizations / K.A. Hossmann // Cerebrovasc. Brain Metab. Rev.–1996.–8(3).–P.195–208.
147. Hossmann K.A. Viability thresholds and the penumbra of focal ischemia / K.A. Hossmann // Ann. Neurol. – 1994. – Vol.36. – P.557–565.
148. Huang Z.L. Roles of adenosine and its receptors in sleep-wake regulation. / Z.L. Huang, Z. Zhang, W.M. Qu // Int Rev Neurobiol. - 2014. - 119. -P. 349-371.
149. Hübel N. Large extracellular space leads to neuronal susceptibility to ischemic injury in a Na⁺/K⁺ pumps-dependent manner / N. Hübel, R.D. Andrew, G. Ullah // J Comput Neurosci. - 2016. - 40(2). - P. 177-192.
150. Illes P. Molecular physiology of P2 receptors in the central nervous system / P. Illes, J.A. Ribeiro // Eur. J. Pharmacol. – 2004. – Vol.483, №1. – P.5–17.
151. Ingvar D.H. EEG related to cerebral metabolism and blood flow / D.H. Ingvar, I. Rosen, G. Johannesson // Pharmakopsychiatrie.–1979. – 12.–P.200–209.
152. Ingvar D.H. Correlation between dominant EEG frequency, cerebral oxygen uptake and blood flow/ D.H. Ingvar, B. Sjolund, A. Ardu // Electroenceph Clin Neurophysiol.–1976.–41.–P.268–276.
153. Ip H.L. The future of ischemic stroke: flow from prehospital neuroprotection to definitive reperfusion / H.L. Ip, D.S. Liebeskind // Interv. Neurol. – 2014. – 2(3) – p.105–117.
154. Isgrò M.A. Neuron-Specific Enolase as a Biomarker: Biochemical and Clinical Aspects / M.A. Isgrò, P. Bottoni, R. Scatena // Adv Exp Med Biol. - 2015. - 867. - P. 125-143.
155. A role for central A₃-adenosine receptors mediation of behavioral depressant effects / K.A. Jacobson, O. Nikodijevic, D. Shi [et al.] // FEBS.–1993.–Vol.336.–P.57–60.
156. Jacobson K.A. Adenosine receptors:pharmacology, structure–activity relationships and therapeutic potential / K.A. Jacobson, P.J. Van Galen, M. Williams // J.Med.Chem.–1992.–Vol.35.– P.407–422.

157. Anxiolytic activity of adenosine receptor activation in mice / N. Jain, N. Kemp, O. Adeyemo [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 1995. – Vol.116. – P.2127–2133.
158. Jarvis C.R. Anoxic depolarization mediates acute damage independent of glutamate in neocortical brain slices / C.R. Jarvis, T.R. Anderson, R.D. Andrew // *Cereb. Cortex.* – 2001. – Vol.11, №3. – P.249–259.
159. Reperfusion injury after focal cerebral ischemia: the role of inflammation and the therapeutic horizon / W.C. Jean, S.R. Spellamm, E.S. Nussbaum [et al.] // *Neurosurgery.*– 1998.– Vol.43.– P. 1382–1396.
160. Novel Method for Screening Adenosine Receptor Specific Agonists for Use in Adenosine Drug Development / K.R. Jones, U. Choi, J.L. Gao [et al.] // *Sci Rep.* - 2017. - 20;7. - P. 44816.
161. Adenosine A2 receptor activation attenuates reperfusion injury by inhibiting neutrophil accumulation, superoxide generation and coronary endothelial adherence / J.E. Jordan, Z.Q. Zhao, H. Sato [et al.] // *J.Pharmacol. Exp.Ther.*– 1997.– Vol. 280.– P. 301–309.
162. Kafka S.H. Selective adenosine A2A receptor/dopamine D2 receptor interactions in animal models of schizophrenia / S.H. Kafka, R. Corbett // *Eur. J. Pharmacol.*–1996. – Vol.295, №2–3. – P.147–154.
163. Clinical biochemistry of neuron specific enolase / E. Kaiser, R. Kuzmits, P. Pregant [et al.] // *Clin Chim Acta.* - 1989. - 31;183(1). - P. 13-31.
164. Mild hypothermia on anoxic depolarization and subsequent cortical injury following transient ischemia / M. Kaminogo, A. Ichikura, M. Onizuka [et al.] // *Neurol. Res.* – 1999. – Vol.21, №7. – P. 670–676.
165. Karlsten R. Local antinociceptive and hyperalgesic effects in the formalin test after peripheral administration of adenosine analogs in mice / R. Karlsten, T. Gordh, C. Post // *Pharmacol. Toxicol.* – 1992. – Vol.70. – P.434–438.
166. Neuroprotective strategies and the underlying molecular basis of cerebrovascular stroke / M. Karsy, A. Brock, J. Guan [et al.] // *Neurosurg Focus.* - 2017;42(4):E3.

167. A1 Adenosine Receptor Activation Modulates Central Nervous System Development and Repair / S. Kashfi, K. Ghaedi, H. Baharvand [et al.] // *Mol Neurobiol.* - 2016. - 26 [in press].
168. Heterogeneous incidence and propagation of spreading depolarizations / D. Kaufmann, J.J. Theriot, J. Zyuzin [et al.] // *J. Cereb. Blood. Flow Metab.* - 2017. - 37(5). - P. 1748-1762.
169. Kazemi H. Familial hemiplegic migraine and spreading depression / H. Kazemi, E.J. Speckmann, A. Gorji // *Iran J Child Neurol.* - 2014. - 8(3). - P. 6-11.
170. Intracerebral adenosine infusion improves neurological outcome after transient focal ischemia in rats / H. Kitagawa, A. Mori, J. Shimada [et al.] // *Neurol. Res.*— 2002.— Vol.24,N3.— P.317–323.
171. Real-time monitoring of human blood-brain barrier disruption / V. Kiviniemi, V. Korhonen, J. Kortelainen [et al.] // *PLoS One.* - 2017. - 20;12(3):e0174072.
172. Anoxic terminal negative DC-shift in human neocortical slices in vitro / R. Kohling, A. Schmidinger, S. Hulsman [et al.] // *Brain Res.*—1996.—V.741, №1–2.— P.174–179.
173. Koistinaho J. Spreading depression-induced cyclooxygenase-2 expression in the cortex / J. Koistinaho, P.H. Chan // *Neurochem Res.* - 2000. - 25(5). - P. 645-51.
174. Serum biochemical markers of brain injury / S., Korfias A. Papadimitriou, G. Stranjalis [et al.] // *Mini Rev Med Chem.* - 2009. - 9(2). - P. 227-234.
175. Koroleva V.I. The use of spreading depression waves for acute and long-term monitoring of the penumbra zone of focal ischemic damage in rats / V.I. Koroleva, J. Bures // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* —1996.—93(8).—P.3710–3714.
176. Role of NMDA receptors and voltage-activated calcium channels in an in vitro model of cerebral ischemia / T. Kral, H.J. Luhmann, T. Mittmann [et al.] // *Brain Res.*— 1993.—28;612(1–2).—P.278–288.
177. Krügel U. Purinergic receptors in psychiatric disorders / U. Krügel // *Neuropharmacology.* - 2016. - 104. - P. 212-25.
178. Changes of local cerebral glucose utilization, DC potential and extracellular potassium concentration in experimental head injury of varying severity / M. Kubota, T.

- Nakamura, K. Sunami [et al.] // *Neurosurg. Rev.* – 1989. – Vol.12, Suppl.1. – P.393–399.
179. Kuffler S.W. Neuroglial cells: Physiological properties and a potassium mediated effect of neuronal activity on the glial membrane potential / S.W. Kuffler // *Proc. RoySoc.*–1967.–V.168.–P.1–21.
180. Lai T.W. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection / T.W. Lai, S. Zhang, Y.T. Wang // *Prog Neurobiol.* - 2014. - 115. - P. 157-188.
181. Lalkovičová M. Neuroprotection and antioxidants / M. Lalkovičová, V. Danielisová // *Neural Regen Res.* - 2016. - 11(6). - P. 865-874.
182. Laubach V.E. Targeting of adenosine receptors in ischemia-reperfusion injury / V.E. Laubach, B.A. French, M.D. Okusa // *Expert Opin Ther Targets.* - 2011. - 15(1). - P. 103-118.
183. Osmotic Edema Rapidly Increases Neuronal Excitability Through Activation of NMDA Receptor-Dependent Slow Inward Currents in Juvenile and Adult Hippocampus / K. Lauderdale, T. Murphy, T. Tung [et al.] // *ASN Neuro.*, - 2015. - 21–7(5).
184. Clinical relevance of cortical spreading depression in neurological disorders: migraine, malignant stroke, subarachnoid and intracranial hemorrhage, and traumatic brain injury / M. Lauritzen, J.P. Dreier, M. Fabricius [et al.] // *J Cereb Blood Flow Metab.* - 2011. - 31(1). - P. 17-35.
185. Lauritzen M. 'Spreading depression of Leão' and its emerging relevance to acute brain injury in humans / M. Lauritzen, A.J. Strong // *J Cereb Blood Flow Metab.* - 2017. - 37(5). - P. 1553-1570.
186. Leão A.A.P. Spreading depression of activity in the cerebral cortex / A.A.P. Leão // *J. Neurophysiol.* –1944. – Vol. 7.– P. 359–390.
187. Optical coherence tomography imaging of capillary reperfusion after ischemic stroke / J. Lee, Y. Gursoy-Ozdemir, B. Fu [et al.] // *Appl Opt.* - 2016. - 20;55(33). - P. 9526-9531.

188. Exercise rehabilitation immediately following ischemic stroke exacerbates inflammatory injury / F. Li, J.T.Jr. Pendy, J.N. Ding [et al.] // *Neurol Res.* - 2017. - 17. - P. 1-8.
189. Li Y. The Effect of Dexmedetomidine on Oxidative Stress Response Following Cerebral Ischemia-Reperfusion in Rats and the Expression of Intracellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) and S100B / Y. Li, S. Liu // *Med Sci Monit.* - 2017. -17;23. - P. 867-873.
190. Lian X.Y. Astrocytes contribute to regulation of extracellular calcium and potassium in the rat cerebral cortex during spreading depression / X.Y. Lian, J.L. Stringer // *Brain. Res.*–2004.–25;1012(1–2).–P.177–184.
191. Liu F. Inflammatory responses in hypoxic ischemic encephalopathy / F. Liu, L.D. McCullough // *Acta Pharmacol Sin.* - 2013. - 34(9). - P. 1121-1130.
192. Loeser J. D. Herpes zoster and postherpetic neuralgia / J. D. Loeser // *Pain.* - 1986. - Vol. 25. - P. 149–164.
193. Lopes L.V. Adenosine and related drugs in brain diseases: present and future in clinical trials / L.V. Lopes, A.M. Sebastião, J.A. Ribeiro // *Curr Top Med Chem.* - 2011. - 11(8). P. 1087-1101.
194. Malhotra J. Effect of adenosine receptor modulation on pentylenetetrazole–induced seizures in rats / J. Malhotra, Y.K. Gupta // *Br. J. Pharmacol.* – 1997. – Vol.120. –P.282–288.
195. Marik P.E. Management of head trauma / P.E. Marik, J. Varon, T. Trask // *Chest.*– 2002.– Vol.122,N2.– P.699–711.
196. Melani A. Adenosine receptors in cerebral ischemia / A. Melani, A.M. Pugliese, F. Pedata // *Int Rev Neurobiol.* - 2014. - 119. - P. 309-348.
197. Mies G. Correlation between peri–infarct DC shifts and ischaemic neuronal damage in rat / G. Mies, T. Iijima, K.A. Hossmann // *Neuroreport.* – 1993. – Vol. 4, №6. –P.709–711.
198. Nucleotides in neuroregeneration and neuroprotection. / M.T. Miras–Portugal, R. Gomez–Villafuertes, J. Gualix [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2015 – Sep 8. pii – S0028–3908(15)30094–0.

199. Aging increases microglial proliferation, delays cell migration, and decreases cortical neurogenesis after focal cerebral ischemia / A. Moraga, J.M. Pradillo, G A. arcía-Culebras [et al.] // *J. Neuroinflammation*, - 2015.-10. - P. 12:87.
200. Moretti A. Pharmacological therapy of acute ischaemic stroke: Achievements and problems / A. Moretti, F. Ferrari, R.F. Villa // *Pharmacol Ther.* - 2015. - 153. - P. 79-89.
201. Serum S100B protein in early management of patients after mild traumatic brain injury / R. Morochovic, O. Rácz, M. Kitka [et al.] // *Eur J Neurol.* - 2009. - 16(10). - P. 1112-1117
202. Niedermeyer E. Electroencephalography: Basic principles, clinical applications and related fields / E. Niedermeyer, F. Lopes Da Silva // Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. – 2005.
203. Behavioural effects of A1– and A2–selective adenosine agonists and antagonists: Evidence for synergism and antagonism / O. Nikodijevic, R. Sarges, J.W. Daly [et al.] // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 1991. – Vol.259. – P.286–294.
204. Regional changes in interstitial K⁺ and Ca²⁺ levels following cortical compression contusion trauma in rats / P. Nilsson, L. Hillered, Y. Olsson [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow Metab.*–1993.–V.13, №2.–P.183–192.
205. Nonneuronal origin of CO₂–related DC EEG shifts: an in vivo study in the cat / D.A. Nita, S. Vanhatalo, F.D. Lafortune [et al.] // *J. Neurophysiol.* – 2004. – V.92, №2. – P.1011–1022.
206. Obrenovitch T.P. Excitotoxicity in neurological disorders: an alternate viewpoint / T.P. Obrenovitch // In: *Neuroprotection: Basic and Clinical Aspects*, edited by Lo EH and Marwah J. Scottsdale: Prominent Press, 2001.– P. 353–377.
207. Ocana M. Role of ATP–sensitive K₁ channels in antinociception induced by R–PIA, an adenosine A₁ receptor agonist / M. Ocana, J.M. Baeyens // *Naunyn – Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* – 1994. – Vol.350. – P.57–62.
208. Calcium ion transients in peri–infarct depolarizations may deteriorate ion homeostasis and expand infarction in focal cerebral ischemia in cats / K. Ohta, R. Graf, G. Rosner [et al.] // *Stroke.* – 2001.– 32(2). – P. 535–543.

209. Olivecrona Z. Association of ICP, CPP, CT findings and S-100B and NSE in severe traumatic head injury. Prognostic value of the biomarkers / Z. Olivecrona, L. Bobinski, L.O. Koskinen // *Brain Inj.* - 2015. - 29(4). - P. 446-454.
210. Olmez I. Reactive oxygen species and ischemic cerebrovascular disease / I. Olmez, H. Ozyurt // *Neurochem Int.* - 2012. - 60(2). - P. 208-212.
211. Olney J.W. Neurotoxicity of excitatory amino acids// In: *Kainic Acid as a Tool in Neurobiology* / Ed. by E.G. McGeer, J.W.Olney, P.L. McGeer.–New York: Raven Press, 1978.
212. O'Neill L.A. NF- κ B: a crucial transcription factor for glial and neuronal cell function / L.A. O'Neill, C. Kaltschmidt // *Trends Neurosci.*– 1997.–Vol. 20.– P. 252–258.
213. Ongini E. Pharmacology of adenosine A_{2A} receptors / E. Ongini, B.B. Fredholm // *Trends Pharmacol. Sci.*– 1996.– Vol. 17.– P. 364–372.
214. Mild hypothermia protects rat hippocampal CA1 neurons from irreversible membrane dysfunction induced by experimental ischemia / M. Onitsuka, S. Mihara, H. Inokuchi [et al.] // *Neurosci. Res.* – 1998.–30(1). – P.1–6.
215. Ortinau S. ATP inhibits NMDA receptors after heterologous expression and in cultured hippocampal neurons and attenuates NMDA-mediated neurotoxicity / S. Ortinau, B. Laube, H. Zimmermann // *J. Neurosci.* – 2003. – Vol.23. – P.4996–5003.
216. Effects of cortical spreading depression on cortical blood flow, impedance, DC potential, and infarct size in a rat venous infarct model / H. Otsuka, K. Ueda, A. Heimann, O. Kempinski // *Exp. Neurol.* – 2000. – Vol.162. – P.201–214.
217. Purinergic signalling in brain ischemia / F. Pedata, I. Dettori, E. Coppi [et al.] // *Neuropharmacology.* - 2016. - 104. - P. 105-130.
218. GFAP versus S100B in serum after traumatic brain injury: Relationship to brain damage and outcome / L.E. Pelinka, A. Kroepfl, M. Leixnering [et al.] // *J. Neurotrauma.*- 2004. - 21. - P. 1553–1561.
219. Neuroprotection Mediated by P_{2Y}13 Nucleotide Receptors in Neurons / R. Pérez-Sen, M.J. Queipo, V. Morente [et al.] // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* – 2015. – 13. – P. 160–168.

220. Cyclic seizures in critically ill patients: Clinical correlates, DC recordings and outcomes / L.F. Pinto, E.J. Gilmore, O.A. Petroff [et al.] // *Clin Neurophysiol.* 2017 Jan 29. pii: S1388-2457(17)30037-8.
221. History and perspectives of A2A adenosine receptor antagonists as potential therapeutic agents / D. Preti, P.G. Baraldi, A.R. Moorman [et al.] // *Med Res Rev.* - 2015. - 35(4). - P. 790-848.
222. Jugular venous and arterial concentrations of serum S-100B protein in patients with severe head injury: a pilot study / A. Raabe, D.K. Menon, S. Gupta [et al.] // *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* - 1998. - 65(6). - P. 930-932.
223. Rajah G.B. Experimental neuroprotection in ischemic stroke: a concise review / G.B. Rajah, Y. Ding // *Neurosurg Focus.* - 2017. - 42(4): E2.
224. Rampp S. Ictal onset baseline shifts and infraslow activity / S. Rampp, H. Stefan // *J Clin Neurophysiol.* - 2012. - 29(4). -P. 291-297.
225. Dose-dependent induction of mRNAs encoding brain-derived neurotrophic factor and heat-shock protein-72 after cortical spreading depression in the rat / Y.M. Rangel, K. Kariko, V.A. Harris [et al.] // *Brain Res. Mol. Brain Res.* -2001.- Vol.88,№1-2.-P.103-112.
226. Reeve A.J. The roles of spinal adenosine receptors in the control of acute and more persistent nociceptive responses of dorsal horn neurons in the anaesthetized rat / A.J. Reeve, A.H. Dickenson // *Br. J. Pharmacol.* - 1995. - Vol.116. - P.2221-2228.
227. Phase I and Phase II Therapies for Acute Ischemic Stroke: An Update on Currently Studied Drugs in Clinical Research / C. Reis, O. Akyol, W.M. Ho [et al.] // *Biomed Res Int.* - 2017. - :4863079.
228. Adenosine A2A agonists: a potential new type of atypical antipsychotic / R. Rimondini, Ferré S, S.O. Ögren [et al.] // *Neuropsychopharmacology.*- 1997.- Vol.17.- P.82-91.
229. Rodin E. DC-EEG recordings of mindfulness / E. Rodin, H. Bornfleth, M. Johnson // *Clin Neurophysiol.* - 2017. - 128(4). - P. 512-519.

230. Oxidative stress and pathophysiology of ischemic stroke: novel therapeutic opportunities / R. Rodrigo, R. Fernández-Gajardo, R. Gutiérrez [et al.] // *CNS Neurol Disord Drug Targets*. - 2013. - 12(5). -P. 698-714.
231. Relationship between intracranial pressure and cortical spreading depression following fluid percussion brain injury in rats / G.G. Rogatsky, J. Sonn, Y. Kamenir [et al.] // *J. Neurotrauma* – 2003. – Vol.20,№12. – P.1315–1325.
232. Rogers H. Effects of hypoxia and hypoglycaemia on DC potentials recorded from the gerbil hippocampus in vitro / H. Rogers, P.J. Birch, A.G. Hayes // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*–1990.–№5.– P. 547–553.
233. Current status of A1 adenosine receptor allosteric enhancers / R. Romagnoli, P.G. Baraldi, A.R. Moorman [et al.] // *Future Med Chem*. - 2015. - 7(10). - P. 1247-1259.
234. Neuron-specific enolase as an aid to outcome prediction in head injury / S.A. Ross, R.T. Cunningham, C.F. Johnston, B.J. Rowlands // *Br J Neurosurg*. - 1996. - 10(5). - P. 471-476.
235. Increased levels of serum S100B protein in critically ill patients without brain injury / C. Routsis, E. Stamataki, S. Nanas [et al.] // *Shock*. - 2006. - 26(1). - P. 20-24.
236. Ruszkiewicz J. Changes in the mitochondrial antioxidant systems in neurodegenerative diseases and acute brain disorders / J. Ruszkiewicz, J. Albrecht // *Neurochem Int*. - 2015. - 88. - P. 66-72.
237. Sánchez-Porrás R. Pharmacological modulation of spreading depolarizations / R. Sánchez-Porrás, Z. Zheng, O.W. Sakowitz // *Acta Neurochir Suppl*. - 2015. - 120. - P. 153-157.
238. Effects of head and extracranial injuries on serum protein S100B levels in trauma patients / O. Savola, J. Pyhtinen, T.K. Leino [et al.] // *J Trauma*. – 2004. - 56(6). – P. 1229-1234.
239. Sebastiao A.M. Adenosine receptors and the central nervous system / A.M. Sebastiao, J.A. Ribeiro // *Handb Exp Pharmacol*. - 2009. - 193. - P. 471-534.
240. Spreading depression activates unfolded protein response / E. Schneeloch, S. Wenkel, G. Mies, W. Paschen // *Neurosci Lett*. - 2004. - 16;368(1). - P. 37-40.

241. Segerdahl M. Experimentally induced ischaemic pain in healthy humans is attenuated by the adenosine receptor antagonist theophylline / M. Segerdahl, A. Karelov // *Acta Physiol. Scandinavica*. – 2004. – Vol. 138. – P. 103-107.
242. Seitz I. Impaired vascular reactivity of isolated rat middle cerebral artery after cortical spreading depression in vivo/ I. Seitz, U. Dignagl, U. Lindauer // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* – 2004. – Vol.24, №5. – P.526–530.
243. Potential role of blood biomarkers in the management of nontraumatic intracerebral hemorrhage / R. Senn, M.S. Elkind, J. Montaner [et al.] // *Cerebrovasc Dis.* - 2014. - 38(6). - P. 395-409.
244. Cortical spreading depression-induced preconditioning in the brain / P.P. Shen, S. Hou, D. Ma [et al.] // *Neural Regen Res.* - 2016. - 11(11). - P. 1857-1864.
245. Shichita T. Post-ischemic inflammation regulates neural damage and protection / T. Shichita, M. Ito, A. Yoshimura // *Front. Cell. Neurosci.* – 2014. – 8. – P. 319.
246. Vasoconstrictive neurovascular coupling during focal ischemic depolarizations / H.K. Shin, A.K. Dunn, P.B. Jones [et al.] // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.*– 2005.–V.7
247. Structural imaging of mild traumatic brain injury may not be enough: overview of functional and metabolic imaging of mild traumatic brain injury / S.S. Shin, J.W. Bales, C. Edward Dixon, M. Hwang // *Brain Imaging Behav.* - 2017. - 11(2). - P. 591-610.
248. Shohami E. Novel approach to the role of NMDA receptors in traumatic brain injury / E. Shohami, A. Biegon // *CNS Neurol Disord Drug Targets.* - 2014. - 13(4). - P. 567-73.
249. Antioxidants and free radical scavengers for the treatment of stroke, traumatic brain injury and aging / J.E. Slemmer, J.J. Shacka, M.I. Sweeney, J.T. Weber // *Curr Med Chem.* - 2008. - 15(4). - P. 404-414.
250. Sollevi A. Adenosine infusion during isoflurane–nitrous oxide anaesthesia: indications of perioperative analgesic effect / A. Sollevi // *AAS.* - 1992. – Vol. 36. – P. 595–599.
251. Somjen G.G. Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression–like depolarization / G.G. Somjen // *Physiol Rev.* – 2001. – Vol.81, №3. – P.1065–1096.

252. Song M. Ionic regulation of cell volume changes and cell death after ischemic stroke / M. Song, S.P. Yu // *Transl Stroke Res.* - 2014. - 5(1). - P. 17-27.
253. Sonn J. Effects of anesthesia on the responses to cortical spreading depression in the rat brain in vivo / J. Sonn, A. Mayevsky // *Neurol. Res.* -2006.-28(2).-P.206-219.
254. Molecular cloning and expression of the cDNA for a novel A2-adenosine receptor subtype / J.H. Stehle, S.A. Rivkees, J.J. Lee [et al.] // *Mol. Endocrinol.* -1992. - №6. - P.384-393.
255. Association of CSF biomarkers and secondary insults following severe traumatic brain injury / D.M. Stein, J.A. Kufera, A. Lindell [et al.] // *Neurocrit Care.* - 2011. - 14(2). - P. 200-207.
256. Blood-based biomarkers for traumatic brain injury: evaluation of research approaches, available methods and potential utility from the clinician and clinical laboratory perspectives / F.G. Strathmann, S. Schulte, K. Goerl, D.J. Petron // *Clin Biochem.* - 2014. - 47(10-11). - P. 876-888.
257. Strong A.J. Depolarisation phenomena in traumatic and ischaemic brain injury / A.J. Strong, R. Dardis // *Adv. Tech. Stand. Neurosurg.*-2005.-V.30.-P.3-49.
258. Cellular expression of adenosine A2A receptor messenger RNA in the rat central nervous system with special reference to dopamine innervated areas / P. Svenningsson, C. Le Moine, B. Kull [et al.] // *Neuroscience.* - 1997. - Vol.80. -P.1171-1185.
259. Temporal profiles of high-mobility group box 1 expression levels after cortical spreading depression in mice / T. Takizawa, M. Shibata, Y. Kayama, [et al.]// *Cephalalgia.* - 2016. - 36(1). -P. 44-52.
260. Cortical spreading depression shifts cell fate determination of progenitor cells in the adult cortex / Y. Tamura, A. Eguchi, G. Jin, [et al.] // *J Cereb Blood Flow Metab.* - 2012. - 32(10). - P. 1879-1887.
261. Tasker R.C. Focal cerebral ischemia and neurovascular protection: a bench-to bedside update / R.C. Tasker, E.D. Duncan // *Curr Opin Pediatr.* - 2015. - 27(6). - P. 694-699.

262. Leao's cortical spreading depression: from experimental "artifact" to physiological principle / H.A. Teive, P.A. Kowacs, P. Maranhao Filho [et al.] // *Neurology*.–2005. –8;65(9). – P. 1455–1459.
263. Cortical spreading depression in traumatic brain injuries: is there a role for astrocytes? / D. Torrente, R. Cabezas, M.F. Avila [et al.] // *Neurosci Lett*. - 2014. - 17;565. - P. 2-6.
264. Traumatic brain injury-induced autoregulatory dysfunction and spreading depression-related neurovascular uncoupling: Pathomechanisms, perspectives, and therapeutic implications / P. Toth, N. Szarka, E. Farkas [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. - 2016. - 1;311(5):H1118-H1131.
265. Explorative investigation of biomarkers of brain damage and coagulation system activation in clinical stroke differentiation / J. Undén, K. Strandberg, J. Malm [et al.] // *J Neurol*. - 2009. - 256(1). - P. 72-77
266. Potassium-induced cortical spreading depression bilaterally suppresses the electroencephalogram but only ipsilaterally affects red blood cell velocity in intraparenchymal capillaries / M. Unekawa, Y. Tomita, H. Toriumi [et al.] // *J Neurosci Res*. - 2013. - 91(4). - P. 578-584.
267. Neuroprotective effect of noscapine on cerebral oxygen-glucose deprivation injury / G. Vahabzadeh, N. Rahbar-Roshandel, S.A. Ebrahimi, M. Mahmoudian // *Pharmacol Rep*. - 2015. - 67(2). - P. 281-288.
268. Immunohistochemistry and serum values of S-100B, glial fibrillary acidic protein, and hyperphosphorylated neurofilaments in brain injuries / D. Vajtr, O. Benada, P. Linzer [et al.] // *Soud Lek*. - 2012. - 57(1). - P. 7-12.
269. Scalp-recorded slow EEG responses generated in response to hemodynamic changes in the human brain / S. Vanhatalo, P. Tallgren, C. Becker [et al.] // *Clinical Neurophysiology*. –2003.–V.114.–P. 1744–1754
270. Vanhatalo S. Full-band EEG (fbEEG): a new standard for clinical electroencephalography / S. Vanhatalo, J. Voipio, K. Kaila // *Clin. EEG Neurosci*.–2005.–36(4). – P. 311–317.

271. Postischemic Inflammation in Acute Stroke / S. Vidale, A. Consoli, M. Arnaboldi, D. Consoli // *J Clin Neurol.* - 2017. - 13(1). - P. 1-9.
272. Vizi E.S. Role of nonsynaptic GluN2B-containing NMDA receptors in excitotoxicity: evidence that fluoxetine selectively inhibits these receptors and may have neuroprotective effects / E.S. Vizi, M. Kisfali, T. Lőrincz // *Brain Res Bull.* - 2013. - 93. - P. 32-38.
273. Glial and neuronal proteins in serum predict outcome after severe traumatic brain injury / P.E. Vos, K.J. Lamers, J.C. Hendriks [et al.] // *Neurology.* - 2004. - 27;62(8). - P. 1303-1310.
274. Haemodynamic changes during seizure-like activity in a neonate: a simultaneous AC EEG-SPIR and high-resolution DC EEG recording / F. Wallois, A. Patil, G. Kongolo [et al.] // *Neurophysiol Clin.* - 2009. - 39(4-5). - P. 217-227.
275. Treatment of acute cerebral ischemia using animal models: a meta-analysis / P.F. Wang, Y. Zhou, H. Fang [et al.] // *Transl Neurosci.* - 2015. - 11;6(1). - P. 47-58
276. A new model of localized ischemia in rat somatosensory cortex produced by cortical compression / S. Watanabe, J.R. Hoffman, R.L. Craik [et al.] // *Stroke.* – 2001. – Vol.32, №11. – P.2615–2623.
277. Watters O. A role for tumor necrosis factor- α in ischemia and ischemic preconditioning / O. Watters, J.J. O'Connor // *J Neuroinflammation.* - 2011. - 2. - P. 8-87.
278. Wauquier A. EEG and Neuropharmacology / A. Wauquier // In: *Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications and Related Fields.* 5th ed. / Eds. Neidermyer E, Lopes da Silva F. – Lippincott Williams&Wilkins: Philadelphia, 2005. – P. 689–700.
279. Ionotropic receptors and ion channels in ischemic neuronal death and dysfunction / N.L. Weilinger, V. Maslieieva, J. Bialecki [et al.] // *Acta Pharmacol Sin.* - 2013. - 34(1). - P. 39-48.
280. Neuroprotective roles of the P2Y(2) receptor / G.A. Weisman, D. Ajit, R. Garrad [et al.] // *Purinergic Signal.*– 2012. –8(3) – P. 559–578.

281. Wojtczak-Soska K. S-100B protein: An early prognostic marker after cardiac arrest / K. Wojtczak-Soska, M. Lelonek // *Cardiol J.* - 2010. - 17(5). - P. 532-536.
282. Prolonged deficits in parvalbumin neuron stimulation-evoked network activity despite recovery of dendritic structure and excitability in the somatosensory cortex following global ischemia in mice / Y. Xie, S. Chen, Y. Wu, T.H. Murphy // *J Neurosci.* - 2014. - 5;34(45). - P. 14890-14900.
283. Angiotensin II stimulation alters vasomotor response to adenosine in mouse mesenteric artery: role for A1 and A2B adenosine receptors / V.R. Yadav, M.A. Nayeem, S.L. Tilley, S.J. Mustafa // *Br J Pharmacol.* - 2015. - 172(20). - P. 4959-69.
284. Diagnostic significance of serum neuron-specific enolase and myelin basic protein assay in patients with acute head injury / Y. Yamazaki, K. Yada, S. Morii [et al.] // *Surg Neurol.* - 1995. - 43(3). - P. 267-270.
285. Induced Spreading Depression Activates Persistent Neurogenesis in the Subventricular Zone, Generating Cells With Markers for Divided and Early Committed Neurons in the Caudate Putamen and Cortex / H. Yanamoto, S. Miyamoto, N. Tohnai [et al.] // *Stroke.* - 2005. - 36. - P. 1544-1550.
286. Biomarkers for the clinical differential diagnosis in traumatic brain injury - a systematic review / S. Yokobori, K. Hosein, S. Burks [et al.] // *CNS Neurosci Ther.* - 2013. - 19(8). - P. 556-565.
287. Glucose metabolism and neurogenesis in the gerbil hippocampus after transient forebrain ischemia / D.Y. Yoo, K.Y. Lee, J.H. Park [et al.] // *Neural Regen Res.* - 2016. - 11(8). - P. 1254-1259.
288. Spreading depression-induced expression of c-fos and cyclooxygenase-2 in transgenic mice that overexpress human copper zinc-superoxide dismutase / J. Yrjanheikki, J. Koistinaho, J.C. Copin [et al.] // *J. Neurotrauma.* - 2000 - №8. - P. 713-718.
289. Yu G. BQ-869, a novel NMDA receptor antagonist, protects against excitotoxicity and attenuates cerebral ischemic injury in stroke / G. Yu, F. Wu, E.S. Wang // *Int J Clin Exp Pathol.* - 2015. - 1;8(2). - P. 1213-1225.

290. NeuroProtective effects of adenosine receptor agonist coadministration with ascorbic acid on CA1 hippocampus in a mouse model of ischemia reperfusion injury / M. Zamani, M. Soleimani, F. Golab [et al.] // *Metab Brain Dis.* - 2013. - 28(3). - P. 367-374.
291. Comparison of adenosine and remifentanyl infusions as adjuvants to desflurane anesthesia / E. Zarate, M. M. Sa Rego, P. F. White [et al.] // *Anesthesiology.* - 1999. - Vol. 90, № 4. - P. 956–963.
292. A1 adenosine receptor attenuates intracerebral hemorrhage-induced secondary brain injury in rats by activating the P38-MAPKAP2-Hsp27 pathway / W. Zhai, D. Chen, H. Shen [et al.] // *Mol Brain.* - 2016. - 14;9(1). - P. 66.
293. Oxidative Stress in Hypoxic-Ischemic Encephalopathy: Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies / M. Zhao, P. Zhu, M. Fujino [et al.] // *Int J Mol Sci.* - 2016. - 10;17(12). pii: E2078.
294. Involvement of the GluN2A and GluN2B subunits in synaptic and extrasynaptic N-methyl-D-aspartate receptor function and neuronal excitotoxicity / X. Zhou, Q. Ding, Z. Chen [et al.] // *J Biol Chem.* - 2013. - 16;288(33). - P. 24151-24159.
295. Žurek J. The usefulness of S100B, NSE, GFAP, NF-H, secretagogin and Hsp70 as a predictive biomarker of outcome in children with traumatic brain injury J. / Žurek, M. Fedora // *Acta Neurochir (Wien).* - 2012. - 154(1). - P. 93-103.